

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научно-исследовательский институт
гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства»**

ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ

THE BULLETIN OF HEMATOLOGY

Том XII № 1 2016

Ежеквартальный научно-практический журнал
Основан в сентябре 2004 года

Главный редактор

заслуженный деятель науки Российской Федерации
профессор

К. М. Абдулкадыров

Заместитель главного редактора

профессор

С. С. Бессмельцев

Санкт-Петербург
2016

Редакционная коллегия:

К. М. Абдулкадыров (главный редактор); *С. С. Бессмельцев* (заместитель главного редактора);
А. Н. Богданов; *Л. Н. Бубнова*; *Т. В. Глазанова* (ответственный секретарь);
С. А. Гусева; *А. Ю. Зарицкий*; *Н. М. Калинина*; *Л. П. Папаян*; *В. Г. Радченко*;
В. И. Ругаль; *О. А. Рукавицын*; *В. Н. Чеботкевич*.

Редакционный совет:

Б. В. Афанасьев (Санкт-Петербург); *В. В. Базарный* (Екатеринбург);
М. Л. Гершианович (Санкт-Петербург); *К. Г. Дуткевич* (Санкт-Петербург); *Г. А. Зайцева* (Киров);
Ю. М. Захаров (Челябинск); *Л. Г. Ковалева* (Москва); *А. В. Литвинов* (Смоленск);
В. И. Мазуров (Санкт-Петербург); *И. В. Поддубная* (Москва); *Т. Н. Поспелова* (Новосибирск);
А. Г. Румянцев (Москва); *В. Г. Савченко* (Москва); *Н. Н. Третьяк* (Киев); *Н. П. Шабалов* (Санкт-Петербург).

Зав. редакцией — *Е. Р. Шилова*, тел.: (812) 717-58-57

Ответственный секретарь — *Т. В. Глазанова*, тел.: (812) 717-08-90, факс: (812) 717-20-87

Адрес редакции:

191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16

E-mail: bloodscience@mail.ru

Сайт: www.bloodscience.ru

За содержание рекламных объявлений редакция ответственности не несет.

При перепечатке материалов ссылка на журнал «Вестник гематологии» обязательна.

Мнение членов редакционной коллегии не всегда совпадает с мнением авторов статей.

Обложка и художественное оформление *О. С. Дмитриева*
Компьютерная верстка *О. С. Дмитриева*

Журнал зарегистрирован Северо-Западным окружным межрегиональным территориальным управлением по Санкт-Петербургу и Ленинградской области Министерства Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средствам массовых коммуникаций.

Свидетельство о регистрации ПИ № 2-7271 от 28 мая 2004 г.

Подписано в печать 05.01.2016 г. Формат бумаги 60 × 90 1/8.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 500 экз. Заказ 21.

Издательство РосНИИГТ, 193024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д. 16.

Отпечатано в ООО «Агентство «ВиТ-принт»», Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 23.

18+

СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕДОВЫЕ СТАТЬИ

Бессмельцев С. С. ЛЕЧЕНИЕ КОСТНОЙ БОЛЕЗНИ ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ	4
---	---

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Кострома И. И., Сидорова Ж. Ю., Грицаев С. В., Тиранова С. А., Свитина С. П., Дрижун Ю. С., Мартынкевич И. С., Капустин С. И., Чечеткин А. В. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ АБЕРРАНТНОГО МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРНЫХ ОБЛАСТЕЙ ГЕНОВ SOX7, P15INK4B И АНТАГОНИСТОВ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ WNT У БОЛЬНЫХ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ.	24
---	----

ОБЗОР

Шамов И. А., Гасанова П. О. ЖЕЛЕЗО, АБСОРБЦИЯ, ТРАНСПОРТ.....	31
---	----

CONTENTS

EDITORIAL

Bessmeltsev S. S. THE TREATMENT OF BONE DISEASE IN MULTIPLE MYELOMA	4
---	---

ORIGINAL

Kostroma I. I., Sidorova Zh.Yu., Gritsaev S. V., Tiranova S. A., Svitina S. P., Drizhun J. S., Martinkevitch I. S., Kapustin S. I., Chechetkin A. V. STUDY OF THE ROLE OF ABERRANT METHYLATION OF PROMOTER REGIONS OF SOX7, p15INK4b AND PATHWAY ANTAGONIST GENES IN PATIENTS WITH MYELODYSPLASTIC SYNDROME.	24
---	----

REVIEWS

Shamov I. A., Gasanova P. O. FERRUM, ABSORPTION, TRANSPORT	31
--	----

Бессмельцев С. С.

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА России»,
г. Санкт-Петербург*

ЛЕЧЕНИЕ КОСТНОЙ БОЛЕЗНИ ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ

Bessmeltsev S. S.

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint-Petersburg

THE TREATMENT OF BONE DISEASE IN MULTIPLE MYELOMA

Резюме. В статье представлены современные подходы к лечению костной болезни при множественной миеломе. Описаны результаты клинических исследований по использованию бисфосфонатов (клодроната, памидроната, золедроновой кислоты, ибандроната). Представлены также результаты собственных исследований по применению различных бисфосфонатов. Показано их влияние на костную болезнь и выживаемость больных множественной миеломой. В течение последних лет для лечения костной болезни при множественной миеломе стали применять моноклональные антитела. Первым из них является деносуаб, который представляет собой полностью гуманизированное моноклональное антитело, направленное против RANK лиганда — основного регулятора функции остеокластов. В статье представлены данные клинических исследований по применению деносуаба. Даны краткие данные по использованию лучевой терапии и оперативному лечению костной болезни.

Ключевые слова. Множественная миелома, костная болезнь, бисфосфонаты, лечение.

Abstract. The article presents modern approaches to treatment of bone disease in multiple myeloma. Describes the results of clinical studies on the use of bisphosphonates (clodronate, pamidronate, zoledronic acid, ibandronate). Presents also the results of own research on the use of various bisphosphonates. It shows their impact on bone disease and survival in patients with multiple myeloma. In the past years for treatment of bone disease in multiple myeloma use of monoclonal antibodies. The first of these is denosumab, which is a fully human monoclonal antibody against RANK ligand which is a key mediator of osteoclast function. The article presents data of clinical studies on the use of denosumab. Provides brief data on the use of radiation therapy and surgical treatment of bone diseases.

Key words: multiple myeloma, bone disease, bisphosphonates, treatment

При множественной миеломе (ММ) наблюдается опухолевое поражение костей скелета, что проявляется мучительными болями. Боли в костях скелета оказывают отрицательное воздействие на качество жизни больных ММ. Выраженность боли и скорость резорбции костной ткани связаны между собой. Деструкция костей снижает их функцию, как аппарата, удерживающего вес, что ведет к разрушению трабекул и микропереломам, а впоследствии — к патологическим переломам. Наблюдается нарушение фосфорно-кальциевого обмена, характеризующегося, в первую очередь, гиперкальциемией (до 30%), а также гиперфосфатемией и/или кальциурией и фосфатурией. Чаще гиперкальциемия встречается у пациентов с большой опухолевой массой. Предполагается, что различные цитокины, в том числе активирующие остеокласты, принимают участие в механизме гиперкальциемии. Поэтому степень выраженности остеолита коррелирует с уровнем кальция в сыворотке крови. Дополнительное значение придается ухудшению клубочковой фильтрации и увеличению тубулярной реабсорбции кальция, а также увеличению сывороточного уровня паратгормона.

Терапевтическое воздействие на процессы остеолита при ММ необходимо осуществлять по двум направлениям.

1. Проведение противоопухолевой терапии, которая ведет к снижению массы опухоли и концентрации остеокластактивирующих факторов и уменьшает, таким образом, процессы остеолита.

Существенный прогресс в лечении костной болезни при ММ достигнут в связи с применением новых лекарственных препаратов — талидомида, бортезомиба, карфилзомиба, леналидомида. Как выяснилось, бортезомиб не только оказывает выраженное воздействие на опухолевые клетки, но и снижает дифференцировку и функциональную активность остеокластов, предотвращая таким образом резорбцию костной ткани. Причем он влияет и на раннюю (через p38 MAPK сигнальный путь), и на позднюю (через $\text{NF-}\kappa\text{B}$ сигнальный путь) фазу дифференцировки остеокластов [1]. Бортезомиб, кроме того, улучшает функциональную компетентность остеобластов и способствует образованию костной ткани. Получены данные по эффективному использованию при костной болезни карфилзомиба, который оказывает выраженный анаболический эффект на костную ткань. Иммуномодуляторы (талидомид, леналидомид, помалидомид) также оказывают существенное

влияние на метаболизм костной ткани у больных ММ. Так, в исследованиях *in vitro* установлено, что талидомид почти полностью блокирует RANKL -индуцированное образование остеокластов. У больных с рецидивами/рефрактерными формами ММ назначение талидомида по 200 мг/сут в комбинации с дексаметазоном вызвало снижение содержания маркеров костной резорбции и соотношения sRANKL/OPG [2]. Леналидомид подавляет образование остеокластов через транскрипционный фактор PU.1 и снижает уровень соотношения sRANKL/OPG у больных ММ [3]. Помалидомид в исследованиях *in vitro* и *in vivo* также проявил блокирующее влияние на RANKL -индуцированный остеокластогенез и регуляцию фактора PU.1 .

2. Не менее важный путь лечения заключается в осуществлении направленных воздействий на активность остеокластов и другие гуморальные механизмы нарушенного обмена в кости. Наиболее эффективными препаратами, снижающими интенсивность резорбции и потерю костной массы, купирующими оссалгический синдром и гиперкальциемию при ММ, являются бисфосфонаты.

Бисфосфонаты являются аналогами пирофосфата, но в отличие от последнего, имеющего в химической структуре связь P-O-P (фосфор-кислород-фосфор), бисфосфонаты характеризуются наличием P-C-P (фосфор-углерод-фосфор) связи, т.е. центральный атом кислорода в них замещен на атом углерода. Бисфосфонаты имеют высокое сродство к фосфату кальция и накапливаются в минеральной части костного матрикса. Они замедляют процессы резорбции, изменяют метаболизм клеток костной ткани и способствуют формированию кости, и, кроме того, обладают противовоспалительными свойствами.

Бисфосфонаты делятся на две группы: 1) ненитрогенсодержащие — этидронат, клодронат; 2) нитрогенсодержащие (аминобисфосфонаты) — алендронат, ибандронат/бондронат, памидронат, ризедронат, золедроновая кислота (золедронат).

Главное фармакологическое действие бисфосфонатов — ингибирование резорбции кости, механизм которого заключается в предохранении от растворения кристаллов гидроксиапатита и непосредственном снижении активности и численности остеокластов. Бисфосфонаты регулируют передачу сигналов от остеобластов к остеокластам, увеличивая продукцию OPG и снижая RANKL -экспрессию. Они подавляют активность остеокластов и увеличивают их

апоптоз. Наряду с этим бисфосфонаты, подавляя экспрессию DKK-1 гена, восстанавливают функциональную компетентность остеобластов. Амино-бисфосфонаты, наряду с этим, ингибируют ферменты цикла мевалоновой кислоты и синтез фарнезилдифосфата, что также ведет к инактивации остеокластов. Снижается содержание кальция в сыворотке крови, нормализуется фосфорно-кальциевый обмен, наблюдается отчетливый анальгетический эффект.

В контролируемых исследованиях была продемонстрирована способность бисфосфонатов задерживать прогрессирование патологического процесса в костях, включая появление новых очагов лизиса и патологические переломы. Имеются убедительные данные о способности бисфосфонатов оказывать непосредственное действие и на опухолевые клетки, либо воздействовать на процесс метастазирования путем снижения опухолевой инвазии и адгезии опухолевых клеток на костном матриксе [4]. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* обнаружено их цитостатическое и цитотоксическое действие, ингибирующее влияние на уровень IL-6, IL-1b и, наоборот, стимулирующее апоптоз различных типов опухолевых клеток и остеокластов [5].

Подтверждением противоопухолевого действия бисфосфонатов явились результаты нескольких клинических исследований, продемонстрировавших позитивное влияние амино-бисфосфонатов на выживаемость больных ММ. Ряд авторов связывают это с непосредственным воздействием амино-бисфосфонатов на рост опухолевых клеток и ингибированием активности остеокластов [6]. Противоопухолевая активность амино-бисфосфонатов объясняется также подавлением мевалонового пути, индуцирующе-

го каспазную активность. Кроме того, использование золедроновой кислоты ведет к созреванию гамма/дельта Т-клеток, осуществляющих надзор за инфицированием и трансформацией клеток. Активированные бисфосфонатами Т-клетки продуцировали цитокины и проявляли специфическую цитотоксичность против лимфо- и миеломных клеточных линий (RPMI 8226, U266) [7]. Еще одно очень важное обстоятельство выяснилось в исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Амино-бисфосфонаты снижают экспрессию сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и фактора роста тромбоцитов (PDGF) и, тем самым, препятствуют образованию новых сосудов, так необходимых для кровоснабжения опухоли и ее роста [8, 9].

Результаты основных клинических исследований оценки эффективности бисфосфонатов представлены в *таблице 1*. Серьезные данные по эффективности клодроната были получены при проведении крупномасштабных рандомизированных исследований в 1992–1994 гг. [10,11]. В исследование были включены 350 больных с впервые выявленной ММ, 175 из них получали клодронат 2,4 г внутрь, а 175 — плацебо в течение 24 мес. При динамическом радиографическом изучении костей скелета установлено, что в группе больных с клодронатом новые очаги деструкции появились у 12% больных, а в группе с плацебо у 24% ($p=0,025$). Патологические переломы тел позвонков в течение 2-х лет возникли у 29,6% больных, в то время как в группе с плацебо — у 40%. Наряду с этим более отчетливо и в быстрые сроки отмечалась нормализация кальция в сыворотке, а избыточная потеря его с мочой не обнаруживалась ни в одном случае.

Таблица 1.

Результаты применения бисфосфонатов при множественной миеломе по данным рандомизированных исследований

Автор	Препарат	Доза	Число больных	Снижение костных событий	Общая выживаемость
R. Lahtinen et al, 1992; M. Laakso et al, 1994	Клодронат	2,4 г/сут внутрь в течение 2 лет	350	Да	Не оценивалась
E.V. McCloskey et al, 1998, 2001,	Клодронат	1,6 г/сут внутрь	530	Да	
H. Brincker et al, 1998	Памидронат	300 мг/сут внутрь	300	Нет	Нет
J.R. Berenson et al., 1996, 1998	Памидронат	90 мг в/в, 21 цикл	392	Да	Да
H. D. Menssen et al, 2002	Бондронат	2 мг 1 раз в месяц	198	Нет	Нет

Автор	Препарат	Доза	Число больных	Снижение костных событий	Общая выживаемость
P. Gimsing et al, 2010	Памидронат	30 или 90 мг в/в каждые 4 недели	504	Сопоставима	Не изменилась
J. R. Berenson et al., 2001	Золедроновая кислота	2 или 4 мг в/в 1 раз в месяц	108	Да	Не оценивалась
L. S. Rosen et al, 2001, 2003	—	4 или 8 мг в/в 1 раз в месяц	513	Да	Да
Morgan et al., 2010, 2011, 2012	Золедроновая кислота	4 мг в/в каждые 3–4 недели	1960	Да	Да

При назначении клодроната больным, у которых еще не было остеолитических очагов, их возникновение в ходе терапии определялось лишь у 2,6%, в то время как в группе пациентов, не получавших препарат — у 11,1%. В связи с этим авторы рекомендуют назначать клодронат не только при выявлении очагов лизиса в костной ткани, но и при их отсутствии, т.е. с целью профилактики.

Чрезвычайно важно своевременное назначение бисфосфонатов, что позволяет пролонгировать общую выживаемость (ОВ) больных ММ. Это подтверждают результаты исследований, проведенных в конце XX столетия. В крупное рандомизированное плацебо-контролируемое исследование, которое проходило с июня 1986 г по май 1992 года, было включено 530 больных [12,13]. Выделено 2 группы: больные 1 группы получали клодронат, а второй — плацебо. Существенных различий в медиане выживаемости у больных обеих групп обнаружено не было ($\chi^2=0,81$; $p=0,37$). Однако у больных без переломов позвонков использование клодроната сопровождалось увеличением выживаемости по сравнению с больными, получавшими плацебо ($p = 0,006$). Так, медиана общей выживаемости больных, получавших клодронат, составила 59 мес. (95% ДИ 43–71 мес.), в группе плацебо — 37 мес. (95% ДИ 31–52 мес.), а 5-летняя ОВ — 46% и 35% соответственно. Обращено внимание на то, что ежедневный прием клодроната в дозе 1600 мг быстро нормализует содержание кальция в сыворотке крови, уменьшает боли в костях, снижает частоту вертебральных и невертебральных переломов и эффективно предотвращает появление новых скелетных повреждений.

Анальгетический эффект внутривенного введения памидроната был продемонстрирован в двух исследованиях. Первое исследование было открытым неконтролируемым (II фаза) по изучению эффективности однократной 2-часовой инфузии 120 мг памидроната. Во втором ис-

следовании, в которое вошло 52 пациента, была проведена рандомизация. Одной группе больных вводился памидронат в дозе 120 мг в 1000 мл физиологического раствора за 2 часа, другие больные получали ту же инфузию, но без памидроната. Через 4 недели при усилении болей больным назначали 120 мг памидроната [14]. В первом исследовании у 59% больных наблюдалось уменьшение болевого синдрома более чем на 20%. На 4-й неделе отмечено улучшение качества жизни больных. Субъективный ответ коррелировал с биохимическим ответом. Больные, у которых отмечалось снижение уровня дексидипиридонила более чем на 50%, с большей вероятностью отвечали на терапию, чем пациенты, у которых снижение этого маркера костной резорбции оказалось менее 50% ($p < 0,05$). Во втором исследовании в течение первых 4-х недель значительное уменьшение показателя болевого синдрома отмечалось после введения памидроната ($p = 0,03$) и не отмечалось в группе плацебо.

Оптимальным режимом введения памидроната являются ежемесячные внутривенные инфузии [15]. В группе больных, получавших памидронат внутривенно 90 мг каждые 4 недели (см. табл. 1), частота костных событий составила 24%, а в группе плацебо — 41% ($p < 0,001$). Более того, выживаемость у пациентов с продвинутыми стадиями заболевания была выше в группе больных с памидронатом (медиана ОВ 21 vs 14 мес.; $p = 0,041$). Еще в одном исследовании было проведено сопоставление эффективности двух дозовых режимов памидроната (30 мг vs 90 мг). В исследование включено 504 больных с впервые выявленной ММ. Обнаружено, что риск скелетных повреждений, время до появления первого костного события и выживаемость у пациентов без костных событий не зависели от дозы памидроната. В тоже же время у пациентов, получавших 30 мг памидроната в течение трех лет, риск остеонекроза челюстных костей и почечной недостаточности был ниже, чем в группе

пациентов, получавших памидронат в дозе 90 мг [16].

J. R. Berenson приводит результаты фазы I и II по применению различных доз золедроновой кислоты у больных с костными метастазами [17]. В фазе I использовались 2 режима введения — 5-минутные ежемесячные внутривенные (в/в) инфузии в дозе от 0,1 до 8 мг в течение 3 мес. или однократное болюсное введение на 30 и 60-й дни в дозе от 1 до 16 мг. Переносимость золедроновой кислоты оказалась вполне удовлетворительной. В фазе II оценивали 5-минутные инфузии 0,4, 2,0 или 4,0 мг золедроновой кислоты и 2-часовые инфузии 90 мг памидроната у 280 больных ММ и раком молочной железы. Среди больных, получавших 2,0 и 4,0 мг золедроновой кислоты или 90 мг памидроната, значительно меньшее их число нуждались в дополнительном назначении лучевой терапии, чем среди больных, получавших 0,4 мг золедроновой кислоты. У 30–35% больных, получавших 2,0 и 4,0 мг золедроновой кислоты или памидронат, и у 46% — 0,4 мг золедроновой кислоты, возникли новые скелетные повреждения. Автор делает заключение, что доза золедроновой кислоты равная 0,4 мг является неэффективной, а использование более 8,0 мг — может привести к нарушению функции почек. Наиболее оптимальной следует считать дозу 4,0 мг, назначаемую в виде 15-минутных инфузий каждые 3–4 недели. Сходные данные приведены в работе L. S. Rosen et al. [18]. Они сообщили о результатах фазы III по сопоставлению эффективности золедроновой кислоты в дозе 4,0 и 8,0 мг в виде 15-минутных внутривенных инфузий и памидроната в дозе 90 мг в виде 2-часовых внутривенных инфузий каждые 3–4 недели в течение 12 мес. у 1648 больных ММ и раком молочной железы. Среди больных, получавших золедроновую кислоту, отмечено более отчетливое снижение болей в костях скелета и уменьшение индекса костных повреждений. Переносимость обоих препаратов была аналогичной, а нарушение функции почек не наблюдалось при дозе золедроновой кислоты, равной 4,0 мг.

В 2001–2003 г. L. Rosen et al. провели рандомизированное двойного слепое плацебо-контролируемое исследование фазы III (см. табл. 1). В 2001 г. в исследование было включено 513, а к 2003 г. — 773 пациентов с ММ, раком легкого и раком молочной железы с поражением костей скелета. Больные разделены на 3 группы: больные 1 группы получали золедроновую кислоту в дозе 4 мг, второй — 8 мг, в 3-й группе — пла-

цебо в виде 15-минутных инфузий 1 раз в 3 недели на протяжении 9 мес. [18,19]. Применение золедроновой кислотой в дозе 8 мг сопровождалось более высокой частотой повышения уровня сывороточного креатинина, и поэтому доза была снижена до 4 мг. При дозе 4 мг золедроновой кислоты наблюдалось значимое снижение доли пациентов, у которых возникло хотя бы одно костное осложнение, отмечено отчетливое увеличение времени до развития первого костного осложнения. Между группами не было существенных различий по частоте возникновения болей в костях (51% у пациентов, леченных золедроновой кислотой, против 59% у пациентов, получавших плацебо), тошноты (46% против 34%), анемии (37% против 33%) и рвоты (36% против 29%). Кроме того показано, что золедроновая кислота улучшала ОВ больных более значимо, чем памидронат, особенно у больных с высокой активностью костной щелочной фосфатазы, уровень которой считается показателем остеолитического процесса и плохого прогноза. Так, ОВ в группе больных ММ, получавших золедроновую кислоту, составила 86% против 63% в группе больных с памидронатом ($p = 0,038$); ОВ у больных с высокой активностью костной щелочной фосфатазы составила 82% в группе золедроновой кислоты и 55% — памидроната ($p = 0,048$). У больных, имеющих высокий уровень маркеров костной резорбции и высокий риск костных инцидентов и смерти, золедроновая кислота способна задержать прогрессию костных повреждений и значимо снизить риск смерти.

В исследования G. Morgan et al. [20–22] было включено 1960 больных с впервые выявленной ММ. Все больные получали индукционную химиотерапию (ХТ) и одновременно были рандомизированы на 2 группы: больным 1-й группы назначены внутривенные инфузии золедроновой кислоты по 4 мг каждые 3–4 недели, 2-й группы — клодронат внутрь по 1600 мг/сут. Медиана времени наблюдения за больными составила 3,7 года. Результаты чрезвычайно интересны. Во-первых, отмечено, что частота костных событий снизилась на 50%. Во-вторых, продемонстрировано различие в эффективности двух бисфосфонатов. Золедроновая кислота более заметно, чем клодронат, предотвращала возникновение новых костных событий (27% vs 35,3% соответственно; $p = 0,0004$). В 1-й группе больных на 16% снизился риск смерти, а медиана времени до прогрессии (ВБП) и ОВ были выше (19,5 vs 17,5 мес., $p = 0,0179$; 50 vs 44,5 мес. $p = 0,0118$

соответственно). Таким образом, это исследование со всей очевидностью продемонстрировало отчетливый антимиеломный эффект бисфосфонатов и выявило преимущества золедроновой кислоты перед клодронатом.

Бондронат/ибандронат (бисфосфонат третьего поколения) эффективен при костной болезни и вызывает снижение уровня кальция в сыворотке крови больных с гиперкальциемией [23]. Следует отметить, что нарастание тяжести электролитных нарушений может стать причиной смерти вследствие нарушений сердечного ритма и почечной недостаточности. Предсказать развитие этого осложнения сложно в связи с отсутствием четких радиологических признаков активности разрушения кости. Интенсивность остеолитических изменений помогают выявить биохимические маркеры, уровень которых в крови или в моче коррелирует с клиническими проявлениями остеодеструкции. К таким маркерам относятся аминотерминал и карбокситерминал телопептидов коллагена I типа, а также фрагмент поперечных связей молекул коллагена деоксипиридинолин.

Усиленная резорбция костей и снижение почечной экскреции приводит к гиперкальциемии. Обычно выявляется повышение как общего, так и ионизированного кальция. Если ионизированный кальций повышен, а общий в норме, следует ориентироваться на ионизированный кальций. Для расчета скорректированного кальция сыворотки используется формула: кальций (ммоль/л) = $0,8 \times (40 - \text{альбумин г/л}) + \text{кальций плазмы (ммоль/л)}$.

При развитии гиперкальциемии, нарушении фосфорно-кальциевого обмена используют гидратацию и кортикостероидные препараты. Однако в случае выраженного гиперкальциемического синдрома гидратация и кортикостероидные препараты мало эффективны. Поэтому бисфосфонаты рассматриваются в качестве препаратов выбора, как при лечении деструктивного процесса в костной ткани, так и гиперкальциемии различной степени выраженности, обусловленной ММ.

В зависимости от выраженности и стойкости гиперкальциемии используются внутривенные введения 2–6 мг бондроната. У большинства больных с тяжелой гиперкальциемией (уровень кальция сыворотки с поправкой на альбумин > 3 ммоль/л) адекватной дозой будет 4 мг, а у больных с умеренной гиперкальциемией (< 3 ммоль/л) — 2 мг. При резистентной гиперкальциемии дозу бондроната приходится увеличи-

вать. Однако использование препарата в дозе 6 мг требуется редко. По нашим данным после внутривенного введения больным ММ бондроната в суточной дозе 2 мг наблюдается снижение уровня кальция, причем эффект его проявляется уже на следующий день.

Установлено, что клодронат может назначаться в виде однократной в/в инфузии 900 или 1500 мг в течение 2–4 часов (в противном случае риск развития почечной недостаточности возрастает), 5 ежедневных инфузий по 300 мг/сут, 3-х инфузий (600 мг, 600 мг, 300 мг в сутки); памидронат назначается в виде в/в инфузии по 60–90 мг в течение 2–4 час. каждые 3–4 недели; бондронат вводится в/в капельно по 2–4 мг в течение 40–60 мин 1 раз в 3–4 недели; золедроновая кислота по 4 мг в виде 15-минутных внутривенных инфузий каждые 3–4 недели [24].

Клодронат и бондронат назначают также внутрь: по 800 мг 2 раза в сутки и 50 мг/сут соответственно. Абсорбция препарата их из желудочно-кишечного тракта невелика. Не более 1–5% от введенной пероральной дозы препарата попадает в кровяное русло. После внутривенного введения бисфосфонатов 60–80% введенного количества обнаруживается в моче в течение 48 часов, остаток удерживается в костной ткани. Однако выделение препаратов уменьшается при наличии костных деструкций, так как в этом случае значительная часть их задерживается в костной ткани вследствие локального повышения обмена. Поэтому экскретируемая с мочой фракция бисфосфонатов может колебаться в широких пределах (от 10 до 80% абсорбированной дозы) [24,25].

При применении бисфосфонатов внутрь наиболее часто сообщается об умеренных желудочно-кишечных осложнениях (дискомфорт, боли в области желудка, жидкий стул, запоры), которые отмечаются у 10% больных, получающих клодронат в суточной дозе 1600 мг. Однако в контролируемых исследованиях частота этих нежелательных явлений оказалась такой же, как и в группе больных с плацебо. В частности, R. Lahtinen et al. [10] приводят следующие данные: у больных, получавших клодронат, тошнота наблюдалась в 17% случаев, а среди больных без клодроната — у 15,4%, жидкий стул — у 10,3 и 8,6%, запор — у 6,1 и 4,9%, боли в эпигастриальной области — у 17,6 и 19,8% соответственно. R. E. Coleman et al. [26] провели двойное плацебо-контролируемое рандомизированное исследование по применению оральной формы бондроната в различных дозировках (5,

10, 20 и 50 мг). Они также наблюдали, главным образом, желудочно-кишечные осложнения, частота которых возрастала соответственно дозе используемого препарата (30%, 33%, 39% и 41%), между тем в группе больных с плацебо частота подобных осложнений составила 50%. В то же время использование бондроната, особенно в дозе 50 мг, сопровождалось существенным ингибированием костной резорбции, что подтверждалось снижением экскреции кальция, N- и C-концевой порций коллагеновых молекул с мочой, а также пиридинолина и деоксипиридинолина.

Выделяются бисфосфонаты, главным образом, почками. Быстрое внутривенное введение клодроната и памидроната может сопровождаться связыванием кальция в экстрамедуллярной жидкости. Внутрисосудистое связывание, в свою очередь, способно привести к образованию комплексов, проявляющих нефротоксичность [27]. Этим и объясняются отдельные случаи развития острой почечной недостаточности. Поэтому клодронат и памидронат рекомендуют вводить в/в медленно (каждое введение в течение 2–4 часов) с предварительной гидратацией (введение солевых растворов в объеме 1,5–2,0 л). Между тем бондронат и золедроновая кислота могут вводиться быстрее (в течение 60 и 15–30 минут соответственно), так как эти препараты не оказывают такого повреждающего влияния на функцию почек.

Собственные данные. Эффективность золедроновой кислоты проанализирована нами у 40 больных ММ II–III стадии (по Durie, Salmon) с длительностью заболевания от 6 мес. до 14 лет [24,27]. 25 пациентов были с впервые выявленной ММ и 15 — с рецидивами/рефрактерностью. При поступлении больные жаловались на боли в позвоночнике, ребрах, лопатках, ключицах, тазовых костях, а у 62% из них, наряду с этим, отмечались выраженные боли в трубчатых костях. Перед введением золедроновой кислоты, на следующий день после введения, на 3, 5, 7, 12 и 14-й дни исследовался уровень кальция и фосфора в сыворотке (в том числе ионизированный). Исходно перед введением золедроновой кислоты, на следующий день после введения, на 5 и 14-й дни исследовалась суточная потеря кальция и фосфора с мочой. Мониторинг больных осуществлялся в течение 2 лет использования золедроновой кислоты. Исходно у 25% больных наблюдалась гиперкальциемия, у 20% — гиперфосфатемия, у 30% выявлена повышенная потеря кальция, а у 15% — фосфора

с мочой. Больным производилась рентгенография костей скелета, при этом был выявлен остеопороз, очаги лизиса костной ткани в черепе, костях таза, компрессионные переломы тел позвонков и снижение высоты их дисков, патологические переломы ребер. Больным осуществлялось измерение минеральной плотности костной ткани с помощью рентгеновской денситометрии. У преобладающего большинства больных выявлено снижение минеральной плотности кости. Золедроновая кислота вводилась в/в капельно в течение 15–30 мин по 4 мг 1 раз в 3–4 недели. Все больные, вошедшие в исследование, получали курсы специальной терапии (с 2000 по 2006 г.г. — различные программы ХТ, с 2006 г. — содержащие бортезомиб режимы — бортезомиб + дексаметазон, бортезомиб + мелфалан + преднизолон). Введение золедроновой кислоты осуществлялось при очередном плановом курсе специальной терапии (интервал между инфузиями не превышал 28 дней).

Объективная оценка эффективности золедроновой кислоты включала следующие показатели: снижение частоты развития тяжелых костных нарушений; возникновение новых патологических переломов костей скелета; появление признаков сдавления/повреждения спинного мозга; потребность в хирургическом вмешательстве на костных структурах; снижение смертности от тяжелых костных осложнений; потребность в лучевой терапии в связи с костными болями и/или другими причинами, обусловленными поражением костей. Осуществлялась субъективная оценка эффективности золедроновой кислоты: качество жизни, интенсивность болевого синдрома, использование анальгетических и/или наркотических препаратов в процессе лечения.

Наряду с этим в исследование были включены 40 больных ММ, которые получали только специальную терапию (аналогичную основной группе). Они составили контрольную группу при расчете общей выживаемости. Больные контрольной группы и основной группы были сопоставимы по возрасту, длительности и стадии болезни, имели в целом сходные клинико-гематологические характеристики и находились на лечении в тот же период времени. В обеих группах по методу Kaplan-Meier была рассчитана общая выживаемость (промежуток времени от даты включения в протокол среди всех больных до смерти от любой причины или до даты последней явки больного). Период наблюдения за больными в обеих группах составил 2 года.

Оценивая результаты применения золедроновой кислоты, нами было отмечено, что все больные лечение перенесли удовлетворительно, тяжелых реакций зарегистрировано не было. Ослабление оссалгического синдрома наблюдалось после 1-й инфузии препарата в течение 2–3 дней. После 2-й инфузии (60 день) 22 (55%) больных не нуждались в приеме обезболивающих средств. Умеренные боли возникали только при вставании с постели и резких движениях. Боль исчезла у 90% больных после 4–5 введения золедроновой кислоты (120–150 день). Лишь у 4 (10%) из 40 больных с очагами лизиса в трубчатых костях болевой синдром купировать не удалось. Им дополнительно была назначена локальная лучевая терапия. При повторном рентгенологическом исследовании костей скелета в динамике через 12 мес. у 36 (90%) больных наблюдалась стабилизация остеодеструктивного процесса. Наиболее отчетливые сдвиги по данным рентгенологического исследования костей

скелета зарегистрированы через 2 года применения золедроновой кислоты, а именно: стабилизация — у 42,5%, признаки регенерации в очагах остеолита — у 47,5% больных (рис. 1).

При денситометрии регистрировалось повышение плотности костной ткани. Лишь у 4 (10%) пациентов, несмотря на регулярное введение золедроновой кислоты, через 7–8 мес. наблюдалось усиление болевого синдрома в костях, а при рентгенологическом исследовании обнаружено нарастание остеодеструктивного процесса. Терапия золедроновой кислотой продолжалась, однако динамика болевого синдрома имела волнообразное течение: ослабление-усиление. Новые патологические переломы, подтвержденные рентгенологически, возникли у 2 (5%) больных, но потребность в хирургическом вмешательстве на костных структурах не возникла ни в одном случае. Появления признаков сдавления/повреждения спинного мозга не наблюдалось.

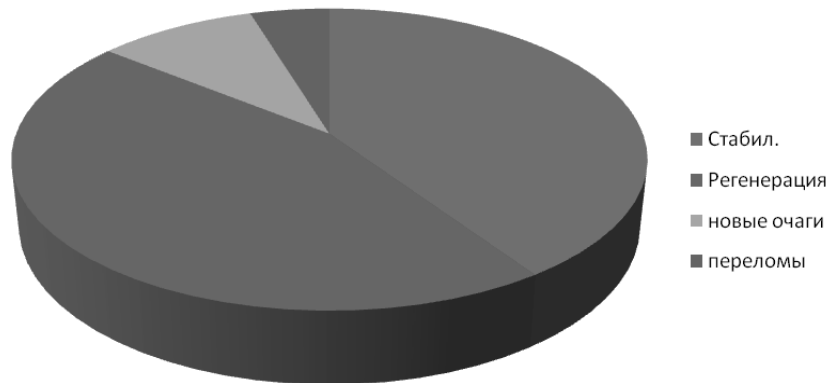


Рисунок 1. Динамика остеодеструктивного процесса у больных ММ после 2-летнего использования золедроновой кислоты.

Примечание. Стабил.— стабилизация остеодеструктивного процесса; регенерация — регенерации в очагах остеолита; новые очаги — новые очаги лизиса в костях скелета; переломы — патологические переломы, возникшие на фоне применения золедроновой кислоты.

Практически у всех больных улучшалось качество жизни, они не требовали за собой постороннего ухода, у них появился интерес к жизни. Уже после 6–8 инфузий препарата пациенты были достаточно активны. Даже больные с вновь возникшими переломами отмечали улучшение общего состояния.

Уровень кальция и фосфора в сыворотке крови больных ММ после инфузий золедроновой кислоты, как видно на рисунке 2, снижался, зачастую даже ниже нормальных величин. Однако снижение было транзиторным, восстановление до нормальных значений наблюдалось в течение 5–7 дней и протекало без клинических признаков гипокальциемии. На 14-й день уровень этих электролитов достигал показателей здоровых лиц. Аналогичная картина выявлена при исследовании суточной потери кальция и фосфора с мочой (см. рис. 2).

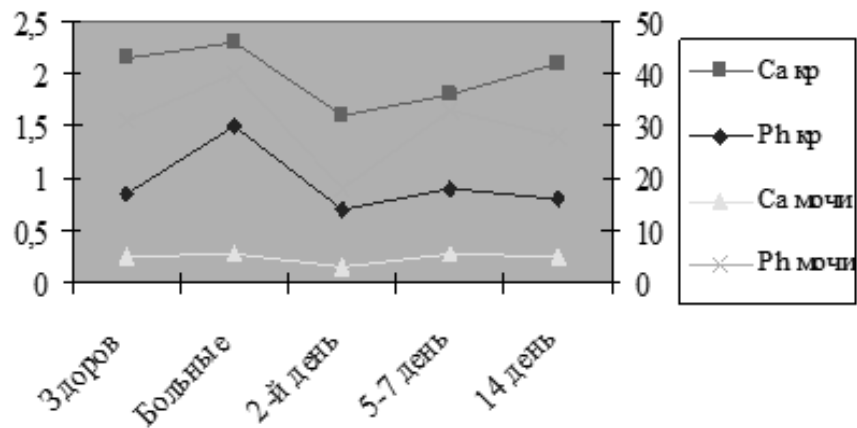


Рисунок 2. Изменение содержания кальция и фосфора в сыворотке крови и суточной моче у больных множественной миеломой на фоне введения 4 мг золедроновой кислоты

При динамическом наблюдении за больными, как видно из данных таблицы 2, число больных с нарушением фосфорно-кальциевого обмена уменьшалось и через 6 мес. терапии лишь у 1 (2,5%) пациента выявлено увеличение сывороточного кальция (общего и ионизированного). У остальных пациентов все показатели соответствовали нормальным величинам. Нормализация уровня кальция в сыворотке крови у последнего пациента отмечена после 7-го введения золедроновой кислоты.

Через 2 года в группе больных, получавших золедроновую кислоту, под наблюдением оставались 95%, а в контрольной группе — 82,5% включенных в протокол. Кривые общей выживаемости больных за весь период наблюдения

показаны на рисунке 3. Медиана общей выживаемости по Kaplan-Meier у больных, получавших золедроновую кислоту, в отличие от пациентов контрольной группы, не достигнута ($p < 0,05$). Эти данные, на наш взгляд, подтверждают противоопухолевое действие золедроновой кислоты.

Переносимость золедроновой кислоты была вполне удовлетворительной. У 20% больных в течение первых суток после введения препарата наблюдалась лихорадка, гриппоподобный синдром, артралгии, миалгии. Однако выраженность гриппоподобного синдрома была умеренной, лишь у 2 пациентов был подъем температуры до 38°C и был купирован приемом парацетамола.

Таблица 2.

Лабораторные показатели больных ММ, получавших золедроновую кислоту

Показатели	Исходные данные	Через 1 мес.	Через 3 мес.	Через 6 мес.
Кальций крови	Повышен — 25%	Повышен — 20%	Повышен — 10%	Повыше — 2,5%
Фосфор крови	Повышен (20%)	Повышен (10%)	Повышен — 2,5%	Норма
Кальций в суточной моче	Повышен — 30%	Повышен — 20%	Повышен — 10%	Норма
Фосфор в суточной моче	Повышен — 15%	Повышен — 10%	Норма	Норма
Креатинин крови	Не изменен	Не изменен	Не изменен	Не изменен
Скорость клубочковой фильтрации	Снижена у 25%, повышена у 15%	Снижена у 10%, повышена у 10%	Не изменена	Не изменена
Минутный диурез	Снижен у 25%, повышен у 15%	Снижен у 10%, повышен у 10%	Не изменен	Не изменен
Реабсорбция	Снижена у 25%	Не изменена	Не изменена	Не изменена

У 15% больных мы наблюдали умеренную гипокальциемию (уровень общего кальция < 2,0 ммоль/л, при норме 2,14–2,9 ммоль/л) длительностью до 14, реже — 20 дней. Однако лишь у 5% больных гипокальциемия проявилась симптомами в виде онемения в пальцах рук, ощущением покалывания, мышечными подергиваниями, что было купировано в течение 2 суток в/в введением глюконата кальция. Этим

пациентам в последующем перед очередными введениями золедроновой кислоты вводился хлорид или глюконат кальция. Обращало на себя внимание, что у этих больных исходно выявлялась высокая концентрация сывороточного и ионизированного кальция, а после первых 2–3 инфузий золедроновой кислоты регистрировалось его резкое падение и замедленный период восстановления.

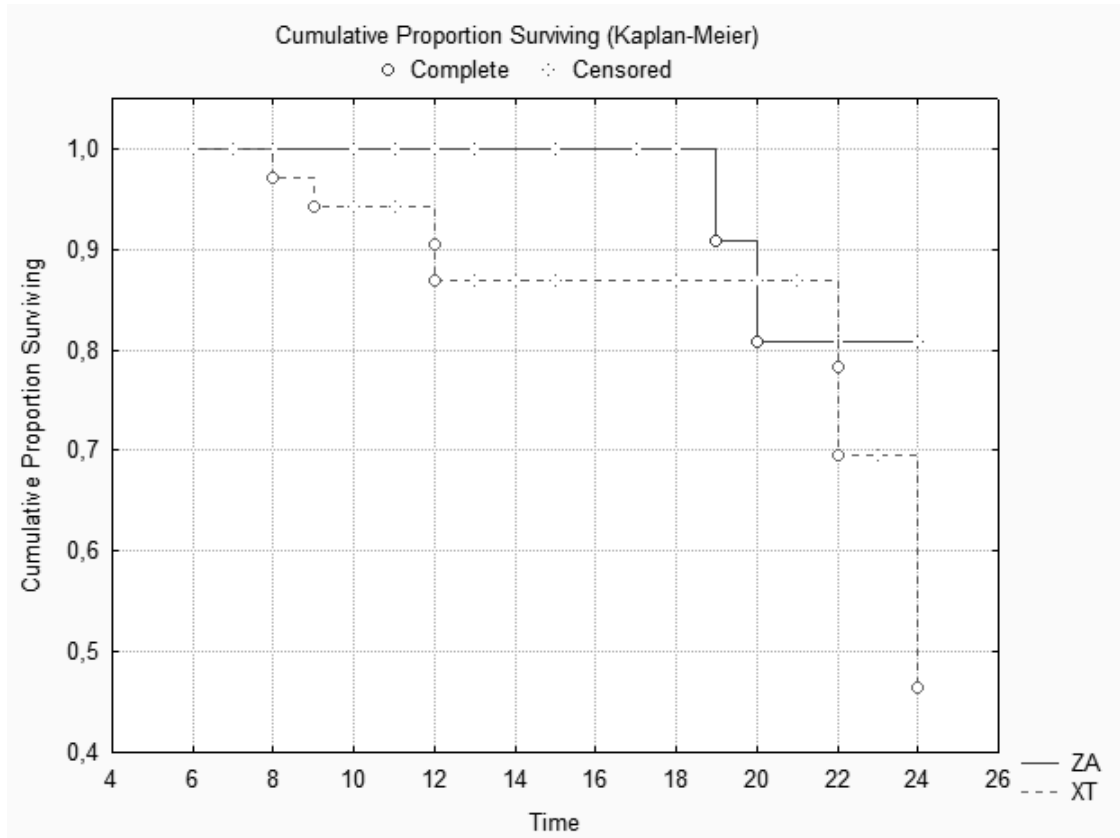


Рисунок 3. Общая выживаемость больных ММ, получавших специальную терапию в сочетании с золедроновой кислотой (ZA), и получавших только специальную терапию (XT).

После нормализации уровня кальция, при очередном введении золедроновой кислоты снижение кальция было не столь выраженным. Курс лечения не прерывался. В случае развития тяжелой гипокальциемии больным назначали препараты кальция (600 мг/сут) или витамин D3 (400 МЕ). Однако препараты кальция следует с осторожностью назначать больным с нарушением функции почек.

У 2 (5%) больных наблюдалась тошнота, у 1 (2,5%) — рвота, у 1 (2,5%) — жидкий стул (до 4 раз в сутки в течение 2 дней). Один больной жаловался на появление приступов кашля сразу после введения золедроновой кислоты (первые 2 введения), у 1 пациентки отмечался подъем ар-

териального давления (больная страдала гипертонической болезнью), а еще 1 больная ощущала утомляемость и головные боли после первых трех инфузий золедроновой кислоты.

Наиболее серьезное осложнение при использовании бисфосфонатов — это развитие острой почечной недостаточности или ухудшение течения уже существующей хронической почечной недостаточности. У наших больных, получавших золедроновую кислоту, негативного влияния на показатели функционального состояния почек не обнаружено. Как видно из *таблицы 2*, перед началом использования золедроновой кислоты уровень креатинина не был изменен, но у 25% больных отмечалось снижение клубоч-

ковой фильтрации и минутного диуреза. Кроме того у 25% больных была изменена реабсорбционная способность почек. Выявив уменьшение реабсорбции воды и концентрационной фильтрации почек, можно утверждать, что у части больных имелось тубуло-интерстициальное поражение почек. Как известно, клубочковая фильтрация — это тот показатель, который позволяет оценить обратимость почечной недостаточности. Своевременное вмешательство и использование эффективных методов лечения развивающейся почечной недостаточности может привести к ее полной обратимости. В нашем исследовании в лечении больных использовались современные методы противоопухолевой терапии ММ (схемы VD — бортезомиб+дексаметазон, VMP — бортезомиб+мелфалан+преднизолон). Больные получали адекватную инфузионную поддержку, осуществлялось тщательное мониторингирование функции почек. Все это позволило восстановить фильтрационную и реабсорбционную способность почек, а применение золедроновой кислоты не оказывало негативного влияния на деятельность почек.

Памидронат мы назначали по следующей методике: разовые инфузии по 60–90 мг в 250 мл изотонического раствора натрия хлорида в течение 2 часов каждые 3–4 недели [27–29]. Что касается разовых доз препарата, то, как уже указывалось выше, чаще рекомендуют вводить 90 мг, а при выраженном болевом синдроме и гиперкальциемии — 120 мг. Поскольку бисфосфонаты захватываются преимущественно на активированных поверхностях костей, то их

концентрация будет выше в очагах повышенной костной резорбции у больных с более тяжелыми формами заболевания и, таким образом, количество препарата в каждом конкретном очаге будет меньше. Возможно, что больным с более агрессивным течением ММ могут потребоваться более эффективные формы бисфосфонатов, высокие их дозы или более интенсивный режим введения. В то же время не всегда увеличение дозы бисфосфонатов сопровождается усилением эффекта. Риск скелетных повреждений, время до появления первого костного события и выживаемость у пациентов без костных событий не зависят от дозы памидроната. В организме памидронат, как и другие бисфосфонаты, практически не метаболизируется и преимущественно выводится почками в неизменном виде. Вводить памидронат рекомендуется в виде медленных внутривенных инфузий (20 мг/час), особенно у пациентов с признаками заболевания почек [28]. Кроме того, необходима предварительная гидратация организма, т.е. вначале больному вводится 1,5–2 л различных растворов, а затем начинается медленная инфузия памидроната.

Оценивая результаты лечения памидронатом, нами отмечено, что все больные перенесли его удовлетворительно, осложнений и тяжелых реакций не было. Ослабление оссалгического синдрома наблюдалось после 1-й (в течение недели), но более значимое — после 2-й инфузии препарата (25–30-й день), когда потребность в применении анальгетических препаратов сохранялась у 30% больных (табл. 3).

Таблица 3.

Сроки купирования оссалгического синдрома у больных множественной миеломой при использовании памидроната

Сроки наблюдения	Эффективность
Исходное состояние	Выраженный болевой синдром, необходимость в наркотических и анальгетических препаратах
После первого введения препарата	Необходимости в назначении наркотических препаратов нет
После второго введения препарата	Умеренный болевой синдром, потребность в анальгетических препаратах у 30% больных, улучшение качества жизни
После третьего введения препарата	Полное купирование болевого синдрома у 90% больных

После 3-го введения полное купирование боли отметили 90% больных (70–80-й день). Улучшалось качество жизни больных, они не требовали за собой постороннего ухода. При повторном исследовании концентрации кальция и фосфора в сыворотке крови, как видно из таблицы 4, наблюдалось их снижение, с последующей нормализацией. Одновременно снизилась

потеря кальция и фосфора с мочой. На показатели функционального состояния почек памидронат влияния не оказал (см. табл. 4).

В литературе описывают главным образом общие реакции на введение памидроната, характеризующиеся возникновением у 10–30% больных гриппоподобного синдрома с лихорадкой и развитием резкой слабости. Реже наблюдается

ПЕРЕДОВЫЕ СТАТЬИ

боль, покраснение и отечность в месте инфузии препарата, транзиторные боли в костях, артралгии, тошнота, рвота, анорексия, боли в животе, головная боль, беспокойство, нарушение ориентации, бессонница. Отмечаются изменения со стороны системы кроветворения (лимфопения, анемия, лейкопения, в отдельных случаях тромбоцитопения), со стороны сердечно-сосудистой системы (артериальная гипертензия или гипо-

тензия), со стороны почек (гематурия, в отдельных случаях острая почечная недостаточность), дерматологические реакции (сыпь), со стороны органов чувств (конъюнктивит, увеит и др.), аллергические реакции вплоть до анафилактического шока, изменение биохимических показателей (Ca, Na, Mg, креатинина, мочевины, показателей печени).

Таблица 4.

Лабораторные показатели больных ММ, получавших памидронат

Показатели	Исходные данные	После 1-го введения	После 2-го введения	После 3-го введения
Кальций крови	Повышен у 4 больных	Норма	Норма	Норма
Фосфор крови	Повышен у 3 больных	Норма	Норма	Норма
Кальций в суточной моче	Повышен у 3 больных	Норма	Норма	Норма
Фосфор в суточной моче	Повышен у 2 больных	Норма	Норма	Норма
Креатинин крови	Не изменен	Не изменен	Не изменен	Не изменен
Скорость клубочковой фильтрации	Снижена у 2 больных, повышена у 1 больного	Повышена у 1 больного	Не изменен	Не изменен
Минутный диурез	Снижена у 2 больных, повышена у 1 больного	Повышена у 1 больного	Не изменен	Не изменен
Реабсорбция	Не изменен	Не изменен	Не изменен	Не изменен

Однако, как правило, эти побочные эффекты возникают редко и сопровождают первую и/или вторую инфузию памидроната и не являются основанием для отмены препарата. Тяжесть анемии и тромбоцитопении не настолько выражена, чтобы это являлось основанием для назначения гемотрансфузий или применения эритропоэтина.

В нашей группе больных в преобладающем большинстве непосредственно после каждой инфузии препарата или на следующий день наблюдались реакции со стороны мышечно-скелетной системы, что проявлялось главным образом генерализованными болями в костях скелета, особенно в местах деструкции костной ткани. Изменений со стороны системы кроветворения в процессе лечения больных памидронатом не отмечалось, т.е. содержание гемоглобина, эритроци-

тов, число лейкоцитов и тромбоцитов не изменилось. При рентгенологическом исследовании костей скелета через 6–8 мес после завершения курса лечения новых очагов метастатического поражения у 90% больных не выявлено. При повторной денситометрии регистрировалось повышение плотности костной ткани. Больные были достаточно активны, постороннего ухода никто не требовал.

Согласно рекомендациям Американского Общества Клинической Онкологии [30,31] больным, получающим бисфосфонаты, необходим мониторинг альбуминурии и уровня креатинина сыворотки крови каждые 3–6 мес. (табл. 5). Лечение прерывается при увеличении креатинина до 0,5 мг/дл у больных с исходно нормальными значениями или до 1,0 мг/дл у больных с измененным уровнем креатинина.

Таблица 5.

Рекомендации по назначению больным бисфосфонатов (ASCO, 2007, 2010)

Предмет обсуждения	Рекомендации
Показания к назначению бисфосфонатов	Назначение бисфосфонатов показано: больным с солидными опухолями при первичном выявлении метастазов в костях скелета, больным ММ с литическими очагами в костях скелета или остеопенией, подтвержденными рентгенографией, магнитно-резонансной томографией или позитронно-эмиссионной томографией; больным с гиперкальциемией при опухолевых неоплазиях. Бисфосфонаты не показаны пациентам с тлеющей миеломой.
Продолжительность лечения бисфосфонатами	Ежемесячное введение бисфосфонатов не более 2 лет с последующей отменой. Повторное назначение возможно, если в этом есть необходимость, но введение каждые 3 мес. (наблюдение за больными).
Мониторинг уровня креатинина	Уровень сывороточного креатина исследуется за 10 дней до первой инфузии золедроновой кислоты и перед каждым очередным введением.
Показания для приостановки (прерывания) курса лечения бисфосфонатами	Корректировка дозы золедроновой кислоты не производится при незначительной почечной недостаточности перед началом ее назначения. Показана при снижении клиренса креатинина (оценочные значения 30–60 мл/мин). Каждые 3–6 мес. исследуется уровень протеинурии и креатининемии. При альбуминурии ≥ 500 мг/сут и креатининемии $> 2,5$ мг/дл у больных с нормальными исходными показателями, и отсутствии нормализации в течение 4–8 недель, показана отмена бисфосфонатов. Лечение прерывается при увеличении концентрации креатинина до 0,5 мг/дл у больных с исходно нормальными значениями или до 1,0 мг/дл у больных с измененным уровнем креатинина. Возобновление возможно в том случае, когда уровень креатинина вернется к исходным значениям (допускаются колебания в пределах 10% от исходного). Длительность введения памидроната увеличивается до 4–6 час, золедроновой кислоты до 30 мин.
Острый гриппоподобный синдром	Гриппоподобные симптомы — лихорадка, артралгии, миалгии, тошнота, усиление костных болей. Возникновение симптомов обычно наблюдается в первые 24 часа, их продолжительность примерно 48 часов. Острая фаза обычно наблюдается после первой в/в инфузии бисфосфонатов, в последующем возникающие симптомы имеют менее выраженный характер. Симптомы гриппоподобного синдрома легко купируются назначением ацетаминофена.

В 2013 г. опубликованы новые рекомендации по применению бисфосфонатов при ММ [32]. Как видно из таблицы 6, назначение бисфосфонатов показано больным с впервые выявленной ММ, получающим I линию противоопухолевого лечения, независимо от результатов рентгенографии. Однако некоторые эксперты считают, что терапию целесообразнее начинать в случае выявления остеопении или очагов лизиса в костной ткани, т.е. придерживаются предыдущих рекомендаций.

Предпочтительным является использование золедроновой кислоты, что основано на более

отчетливом снижении костных событий и увеличении общей выживаемости больных по сравнению с другими бисфосфонатами. Лечение длительное. При достижении полной (ПР) или очень хорошей частичной ремиссии (охЧР) лечение бисфосфонатами может быть прекращено, возобновлено при развитии рецидива. Продолжительность применения бисфосфонатов у пациентов с частичной ремиссией (ЧР) не определена, но она не должна быть менее 12–24 мес, а далее, по мнению экспертов рабочей группы, на усмотрение врача.

Таблица 6.

Новые рекомендации по применению бисфосфонатов у больных множественной миеломой

Предмет обсуждения	Рекомендации
Показания к назначению бисфосфонатов	Назначение бисфосфонатов показано: больным с впервые выявленной ММ, получающим I линию противоопухолевого лечения, независимо от результатов рентгенографии (с наличием или без очагов лизиса), а также пациентам с остеопорозом или остеопенией. Показано проведение магнитно-резонансной томографии или позитронно-эмиссионной/компьютерной томографии.
Введение	Внутривенно

Предмет обсуждения	Рекомендации
Продолжительность лечения	У больных, не достигших ПР или оХЧР, длительное ежемесячное введение бисфосфонатов. У больных, достигших ПР или оХЧР, лечение прерывают после 2 лет терапии; если получена \leq ЧР, введение бисфосфонатов продолжают.
Мониторинг	Ежемесячный контроль клиренса креатинина
Выбор препаратов	Золедроновая кислота Памидронат Клодронат только больным, находящимся под амбулаторным наблюдением, пациентам с тяжелыми формами инвалидности и имеющим противопоказания для назначения золедроновой кислоты/памидроната.

При выявлении нарушений функции почек (КК – 30–60 мл/мин) следует придерживаться предыдущих рекомендаций (табл. 5). При легкой степени почечной недостаточности доза клодроната уменьшается на 25%, при умеренной — на 25–50%, при тяжелой — на 50%, длительность инфузии увеличивают до 4–6 часов. При КК < 12 мл/мин назначение клодроната внутрь противопоказано. При умеренном на-

рушении функции почек дозу памидроната следует понизить до 30–60 мг, а длительность инфузии также увеличить до 4–6 часов. Доза золедроновой кислоты также подлежит коррекции с учетом уровня клиренса креатинина (табл. 7), но длительность ее инфузии гораздо меньше (30–45 мин). При КК < 30 мл/мин бисфосфонаты не следует применять.

Таблица 7.

Рекомендации по введению золедроновой кислоты с учетом клиренса креатинина

Исходный уровень клиренса креатинина (мл/мин)	Рекомендуемая доза золедроновой кислоты (мг)
> 60	4,0
50–60	3,5
40–49	3,3
30–39	3,0

Еще одно осложнение, которое впервые было описано в 2004 г.— остеонекроз челюстных костей, проявляющийся рефрактерным остеомиелитом верхних и/или нижних челюстных костей. Это осложнение наблюдалось у больных, длительно получающих лечение различными бисфосфонатами (от 6 до 48 месяцев). Патогенез остеонекроза связан с недостаточностью кровообращения и нарушением васкуляризации кости. Предполагают, что бисфосфонаты при длительном использовании вызывают мощное подавление функции остеокластов, что может привести не только к снижению костной резорбции, но

и нарушению нормального обмена, и извращенному ремоделированию кости. В конечном итоге это приводит к снижению механических свойств кости, их микроповреждениям и остеомиелиту [33, 34]. Частота развития остеонекроза челюстных костей колеблется от 2,7% до 12,8% (табл. 8), а при применении золедроновой кислоты с последующей заменой на памидронат колеблется от 5% до 51%. Риск развития остеонекроза в течение первых 2 лет применения памидроната составляет 1–2%, золедроновой кислоты — в 9,5 раз выше, клодроната — 0–0,5% [35, 36].

Таблица 8.

Частота развития остеонекроза челюстных костей на фоне использования бисфосфонатов

Исследователи	Число больных, получавших бисфосфонаты	Число больных с подозрением или доказанным остеонекрозом	% больных с остеонекрозом
B.G. Durie et al., 2005	904	116	12,8
A.Z. Badros et al., 2006	340	11	3,2
A.Pozzi et al., 2005	888	16	1,8
G. Tozi et al., 2005	225	6	2,7
M. Cafro et al., 2005	104	13	12,5
M.A. Dimopoulos et al., 2006	202	15	7,4
G.J. Morgan et al., 2012	1960	80	4,1
Собственные данные	80	6	7,5

С целью предотвращения развития остеонекроза рекомендуется всем больным перед началом использования бисфосфонатов и в процессе их применения проходить стоматологическое обследование. Показан тщательный уход за полостью рта. Перед тем, как назначить курс лечения бисфосфонатами, необходимо обратить внимание на факторы риска развития остеонекроза, к которым относятся: заболевания периодонта; сопутствующая инфекция в полости рта, кариес (в этом случае показана санация полости рта); предшествующая кортикостероидная терапия; микротравмы, травмы костей челюсти в анамнезе или произведенные в прошлом хирургические операции на этих костях; в 60% случаев остеонекроз возникает после стоматологического вмешательства, удаления зуба, хирургических операций, в 40% — после инфекций, травм. Ранняя диагностика может предотвратить или снизить заболеваемость вследствие распространенных деструктивных изменений в челюстных костях.

В нашем исследовании среди 80 больных, получавших бисфосфонаты, остеонекроз челюстных костей наблюдался у 6 (7,5%) человек (см. табл. 8.). У всех больных при сборе анамнеза были выявлены факторы риска — частые инфекции в полости рта (стоматит, гингивит), длительный прием кортикостероидных препаратов, у одного пациента за 1 мес до начала использования золедроновой кислоты была экстракция зуба и у 1 больной в анамнезе — другие стоматологические вмешательства.

Согласно рекомендациям ASCO [30–32], в случае выявления признаков остеонекроза, следует немедленно отменить бисфосфонаты, верифицировать стадию остеонекроза и приступить к его лечению (табл. 9).

Остеонекроз чаще развивается после 2 лет применения бисфосфонатов. Однако следует помнить, что остеонекроз, в первую очередь при наличии факторов риска, может развиваться в более короткие сроки. Среди наших больных признаки остеонекроза были обнаружены гораздо раньше. У 2 пациентов был диагностирован остеонекроз 1 стадии после 14 мес. применения золедроновой кислоты, у 1 пациентки — 2 стадии после 16 мес. и еще у 1 больной — 3 стадии после 10 мес.

В связи с этим рекомендуется больным, у которых на фоне основной терапии удалось получить полную либо очень хорошую частичную ремиссию, бисфосфонаты отменять и возобновлять терапию при рецидиве. У больных, достигших менее чем очень хорошей частичной ремиссии, применение бисфосфонатов может быть продолжено. Эксперты Американского Общества Клинической Онкологии считают, что терапия бисфосфонатами должна продолжаться до тех пор, пока ее польза будет превышать неудобства, связанные с необходимостью ежемесячных внутривенных введений этих препаратов или пока не разовьются возможные серьезные осложнения терапии. Но следует помнить об остеонекрозе, поэтому целесообразнее ограничиться 2 годами применения бисфосфонатов.

Таблица 9.

Стадии и методы лечения остеонекроза челюстных костей, возникшего в связи с применением бисфосфонатов [30–32, 37, 38]

Стадии остеонекроза	Методы лечения
Нет признаков некротического поражения челюстных костей при использовании оральных или внутривенных бисфосфонатов	1. Лечение не проводится. 2. Больным рассказывают о возможных осложнениях бисфосфонатов и мерах их профилактики (гигиена полости рта).
Стадия 1. Обнажение кости, симптоматика отсутствует. Нет инфекции мягких тканей	1. Лечение бисфосфонатами прекращается, обязательна консультация стоматолога. 2. Полоскание полости рта антибактериальными растворами. 3. Ежеквартальное обследование больных. 4. Больным разъясняют причины остеонекроза, приводят доводы за и против продолжения терапии бисфосфонатами.
Стадия 2. Обнажение кости, боль, гиперемия и отечность мягких тканей. Инфекция мягких тканей или кости с наличием или без гнойного отделяемого.	1. Симптоматическое лечение (совместно со стоматологом) с использованием оральных противомикробных препаратов (обязательны посевы на бактерии, грибы, вирусы). Применяют антибиотики, например, пенициллин, цефалексин, клиндамицин (следует определить чувствительность флоры); противогрибковые и противовирусные средства — флуконазол, ацикловир или валацикловир. 2. Полоскание полости рта антибактериальными растворами. Контроль боли. 3. Хирургическая обработка раневой поверхности.

Стадии остеонекроза	Методы лечения
<p>Стадия 3. Некроз кости с выраженным болевым синдромом, инфекция, патологические переломы костей (один или более), наружные свищи и лизис близлежащих костей. Инфекционное поражение мягких тканей, не поддающееся лечению антибиотиками.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Полоскание полости рта антибактериальными растворами. 2. Антимикробная терапия (антибиотики, противогрибковые и противовирусные препараты с учетом выявленной флоры) и контроль боли. 3. Консультация стоматолога, челюстного хирурга. 4. Хирургическая обработка/резекция пораженной кости в пределах воспалительной инфильтрации с целью купирования инфекции и боли.

Не стоит опасаться использовать бисфосфонаты, которые чрезвычайно важны при лечении ММ, так как они позволяют более эффективно контролировать опухолевый процесс. Необходимо лишь обратить более пристальное внимание на меры профилактики развития остео-некроза. Врач должен тщательно осматривать полость рта больного перед каждым очередным введением бисфосфонатов и информировать его о возможных осложнениях, объяснять правила гигиены полости рта. Использование профилактических мероприятий позволяет снизить риск остео-некроза на 75%. В ходе курса лечения бисфосфонатами следует до минимума сократить инвазивные процедуры, а в случае их осуществления (удаление зуба, мелкие оперативные вмешательства и др.) обязательное назначение антибиотиков вплоть до полной санации очагов инфекции.

Таким образом, бисфосфонаты являются высокоэффективными лечебными препаратами, которые играют важную роль в терапии больных ММ. Убедительно показано, что бисфосфонаты:

- 1) эффективно обеспечивают защиту костной ткани;
- 2) быстро купируют оссалгический синдром;
- 3) существенно задерживают время появления костных очагов деструкции;
- 4) подавляют прогрессирование деструктивного процесса в костях скелета;
- 5) значительно снижают риск появления новых опухолевых инфильтратов в костях;
- 6) сокращают частоту патологических переломов костей;
- 7) способствуют регенерации костной ткани и консолидации патологических переломов;
- 8) нормализуют фосфорно-кальциевый обмен, снижают содержание кальция и фосфора в сыворотке крови и уменьшают их потерю с мочой;
- 9) улучшают качество жизни больных, увеличивают их выживаемость.

Накопленный к настоящему времени опыт по использованию бисфосфонатов позволяет рекомендовать их при ММ как стандартную те-

рапию, способную повлиять и на выживаемость больных. Необходимо лишь помнить о возможных побочных эффектах и осложнениях, осуществлять тщательный мониторинг функции почек, электролитов, обязательно перед каждым введением осматривать полость рта и проводить профилактику развития остео-некроза. Все это возможно при тесном контакте врача и пациента и рациональном использовании имеющихся рекомендаций.

В течение последних лет для лечения костной болезни при множественной миеломе и других опухолях стали применять моноклональные антитела. Первым из них является деносумаб, который представляет собой полностью гуманизированное моноклональное антитело (IgG2), обладающее высокой аффинностью и специфичностью к лиганду рецептора активатора ядерного фактора κ -B (RANKL) и препятствующее активации RANK. Повышенная активность остеокластов, индуцированная RANKL, как уже указывалось, является основной причиной деструкции костной ткани при множественной миеломе. Деносумаб предотвращает взаимодействие RANKL/RANK, подавляет образование, активацию и выживаемость остеокластов.

В исследовании I фазы 54 пациентам с раком молочной железы (n = 29) или ММ (n = 25) с рентгенологически подтвержденными очагами лизиса в костной ткани был назначен деносумаб либо памидронат. Через 24 часа после подкожного введения деносумаба наблюдалось снижение содержания маркеров костной резорбции в моче и сыворотке больных. В группе больных, получавших внутривенно памидронат, результаты были сходными, но менее стойкими [39]. В исследовании II фазы деносумаб по 120 мг подкожно назначался больным с рецидивами после предшествующей терапии, пациентам с ответом или стабилизацией заболевания длительностью не менее 3 мес. Согласно полученным данным, у больных наблюдалось снижение маркеров костной резорбции более чем на 50% [40].

В исследовании III фазы была изучена эффективность деносумаба (n = 886) и золедроновой кислоты (n = 890) у больных с солидными опу-

холями с метастазами в кости и ММ с очагами лизиса в костной ткани. Больные были рандомизированы на 2 группы: в одной группе пациенты получали деносумаб 120 мг подкожно или плацебо каждые 4 недели, в другой — золедроновую кислоту 4 мг в/в или плацебо также каждые 4 недели. Скелетные повреждения оценивали каждые 12 недель, но при появлении симптоматики — чаще [41]. Эффективность деносумаба и золедроновой кислоты была схожей. Медиана времени до первого костного события у больных, получавших деносумаб, составила 20,6 мес., а золедроновую кислоту — 16,3 мес. ($p = 0,06$). Время до первого и последующих костных событий в обеих группах больных было также сопоставимо (95% ДИ 0,77–1,04; $p = 0,14$). Общая выживаемость и время до прогрессирования ММ в группах не различались (95% ДИ 0,83–1,08; $p = 0,43$ и 0,89–1,12; $p = 1,0$). В то же время снижение содержания маркеров костной резорбции и активности костной щелочной фосфатазы было более отчетливым в группе больных с деносумабом, чем с золедроновой кислотой (76% vs 65%; $p < 0,01$ и 37% vs 29%; $p < 0,001$).

Переносимость деносумаба в целом не отличалась от таковой золедроновой кислоты. Частота инфекционных осложнений составила 40,8 и 39,7%, из них тяжелых — 14,6 и 13,4% соответственно. Гипокальциемия чаще развивалась при применении деносумаба, чем золедроновой кислоты (10,8% vs 5,8%). Частота остеонекроза челюстных костей у больных, получавших деносумаб и золедроновую кислоту, была сопоставимой (0,5 и 0,6% в течение 1 года; 1,1 и 0,9% — 2 года; 1,1 и 1,3% — 3 года соответственно). Острофазовые реакции в первые 3 дня на введение деносумаба наблюдались реже, чем на введение золедроновой кислоты (6,9% vs 14,5%). Не было необходимости снижать дозу деносумаба в случае нарушения функции почек. У больных с КК < 60 мл/мин нарушение функции почек выявлялось чаще при использовании золедроновой кислоты, чем деносумаба (21,6% vs 11,3%). Авторы делают заключение, что деносумаб в целом по эффективности не уступает золедроновой кислоте, а по удобству применения (подкожное) и отсутствию негативного влияния на функцию почек более предпочтителен для лечения больных ММ и солидных опухолей с костными повреждениями.

При развитии гиперкальциемии, нарушении фосфорно-кальциевого обмена при ММ используют также гидратацию и глюкокортикостероидные препараты. Гидратация производится со-

левыми растворами (ежедневно назначается до 3–6 л/м² изотонического раствора натрия хлорида внутривенно или частично внутрь); для усиления диуреза, с целью ингибирования тубулярной реабсорбции натрия и кальция и увеличения экскреции кальция, одновременно используют щелочные растворы в сочетании с мочегонными препаратами (лазикс 20–40 мг). Во время инфузионной терапии мониторируют артериальное давление, пульс, объем мочи, электролиты. Необходимо добиться диуреза на уровне 200 мл в час. Показаны глюкокортикоиды, в частности преднизолон 50–100 мг в сутки или гидрокортизон, дексаметазон в соответствующих дозах, а также ингибиторы синтеза простагландинов. Гидратация в комбинации с кортикостероидными препаратами — достаточно эффективный метод лечения гиперкальциемического синдрома, но при выраженности этого синдрома лечение не всегда удачно. Кроме того, при назначении глюкокортикоидов и ингибиторов синтеза простагландинов нередко наблюдаются различные побочные эффекты и даже осложнения, в частности, со стороны желудочно-кишечного тракта — эрозии, язвенные поражения, желудочно-кишечные кровотечения, может отмечаться усиление остеопороза, нарушение функции инсулярного аппарата поджелудочной железы и т.д. Форсированный диурез может осложниться гипонатриемией, гипокалиемией.

При костной болезни используют и другие виды лечения: нестероидные противовоспалительные препараты (индометацин, диклофенак и др.), сочетание их с центрально-действующими агентами (кодеинсодержащими средствами), наркотические препараты, кальцитонин, лучевую терапию. Однако активность нестероидных противовоспалительных и наркотических препаратов невелика, так как длительного обезболивающего эффекта добиться практически не удается.

Лучевая терапия в основном используется для лечения солитарной плазмоцитомы, при появлении симптомов компрессии спинного мозга, выраженном болевом синдроме, обусловленном лизисом костной ткани и с целью предупреждения патологических переломов. Проведение лучевой терапии эффективно при локализованных болях в костях. Примерно, 20% больных ММ нуждаются в проведении лучевой терапии. Многие больные ММ страдают от нелокализованных, распространенных болей, или уже от возобновления болей в месте облучения. Поэтому возможности лучевой терапии у больных ММ

ограничены в связи с наличием множественных очагов деструкции в костях скелета, мигрирующим характером болей. К тому же, частые повторные облучения могут привести к поражению кожи и возникновению вторичных лейкозов [24,42].

Лечение ММ включает также вертебропластику, которая проводится при сильном болевом синдроме, связанном с патологической компрессией тел позвонков, и кифопластику, представляющую собой модификацию вертебропластики. Кифопластика используется для восстановления высоты позвонков, исправляет кифотическую деформацию позвоночника. Однако риск в последующем повторных патологических переломов у больных, перенесших вертебропластику и кифопластику, существенно выше, чем у больных, у которых эти операции не производились [43]. Следует отметить, что хирургическое вмешательство в последние годы применяется достаточно редко, что связано с применением эффективных лекарственных препаратов. Оперативное лечение часто является травматичным вмешательством, связанным с различными рисками для больного.

Показаниями к оперативному лечению являются: 1) наличие патологического перелома, не поддающегося консервативной коррекции; 2) интенсивный болевой синдром на фоне нестабильной кости; 3) наличие неврологической

симптоматики при поражении позвоночника; 4) грубая костная деформация на фоне патологического процесса [44].

По степени травматичности все оперативные вмешательства можно разделить условно на три категории. 1) Малоинвазивные вмешательства: пункционная вертебропластика; радиочастотная абляция; пункционный транскутанный спондилосинтез; интрамедуллярный остеосинтез. 2) Расширенное оперативное вмешательство (при распространенном опухолевом процессе: спондилэктомия в сочетании с транспедикулярной фиксацией; эндопротезирование пораженного сегмента; декompрессия невральных структур. 3) Радикальные операции с резекцией солитарной опухоли (плазмодитомы) блоком с эндопротезированием утраченного сегмента и восстановлением его функции [44, 45]. В первом случае операции носят полуамбулаторный характер, выполняются под местной или проводниковой анестезией. Вторая группа вмешательств выполняется при далеко зашедшем процессе, требующем резекции опухоли, что существенно повышает их агрессивность, а следовательно, и увеличивает восстановительный период до 10–14 дней. Третья, наиболее редкая группа операций выполняется по исключительным показаниям и носит радикальный характер. Это обычно сложные реконструктивные вмешательства, сопровождающиеся достаточно высоким риском для жизни и здоровья пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zavrski I., Krebbel H., Wildemann B. et al. Proteasome inhibitors abrogate osteoclast differentiation and osteoclast function. *Biochem// Biophys. Res. Commun.*— 2005.— Vol. 333, N1.— P. 200–205.
2. Terpos E., Anagnostopoulos A., Kastritis E. et al. The Combination of Bortezomib, Melphalan, Dexamethasone and Intermittent Thalidomide (VMdT) Is an Effective Treatment for Relapsed/Refractory Myeloma: Results of a Phase II Clinical Trial// *ASH Annual Meeting Abstracts.*— 2005.— Vol. 106.— P. 363.
3. Breitkreutz I., Raab M. S., Vallet S. et al. Lenalidomide inhibits osteoclastogenesis, survival factors and bone-remodeling markers in multiple myeloma// *Leukemia.*— 2008.— Vol. 22, N10.— P. 1925–1932.
4. Clezardin P., Gligorov J., Delmas P. Mechanisms of action of bisphosphonates on tumor cells and prospects for use in the treatment of malignant osteolysis// *Joint Bone Spine.* 2000. Vol. 67. P. 22–29.
5. Senaratne S. G., Pirianov G., Mansi J. L. et al. Bisphosphonates induce apoptosis in human breast cancer cell lines// *Br. J. Cancer.*— 2000.— Vol. 82.— P. 1459–1468.
6. Avilés A., Nambo M. J., Neri N. et al. Antitumor effect of zoledronic acid in previously untreated patients with multiple myeloma// *Med Oncol.*— 2007.— Vol. 24, N2.— P. 227–230.
7. Kunzmann V., Bauer E., Feurle J. et al. Stimulation of T cells by aminobisphosphonates and induction of antiplasma cell activity in multiple myeloma// *Blood.*— 2000.— Vol. 96.— P. 384–392.
8. Vincenzi B., Santini D., Dicuonzo G. et al. Zoledronic acid-related angiogenesis modifications and survival in advanced breast cancer patients// *J. Interferon Cytokine Res.*— 2005.— Vol. 25.— P. 144–145.

9. Santini D., Schiavon G., Angeletti S. et al. Last generation o amino-bisphosphonates (N-BPs) and cancer angio-genesis: a new role for these drugs?// *Recent Pat. Anticancer Drug Discov.*— 2006.— Vol. 1, N3.— P. 383–396.
10. Lahtinen R., Laakco M., Palva I. et al. Raandomised, placebo-controlled multicentre trial of clodronate in multiple myeloma// *Lancet.*— 1992.— Vol. 340.— P. 1049–1052.
11. Laakco M., Lahtinen R., Virkkunen P. et al. Subgroup and cost-benefit analysis of the Finnish multicentre trial of clodronate in multiple myeloma// *Brit. J. Haematol.*— 1994.— Vol. 87.— P. 725–729.
12. McCloskey E.V., MacLennan I.C., Drayson M. T. et al. A randomized trial of the effect of clodronate on skeletal morbidity in multiple myeloma: MRC Working Party on Leukaemia in Adults. *Br J Haematol.*— 1998.— Vol. 100.— P. 317–325.
13. McCloskey E., Dunn J. A., Kanis J. A. et al. Long-term follow-up of a prospective, double-blind, placebo-controlled randomized trial of clodronate in multiple myeloma// *Br. J. Haematol.*— 2001.— Vol. 113.— P. 1035–1043.
14. Vinholes J. J.F., Purohit O. P., Abbey M. E. et al. Relationships between biochemical and symptomatic response in a double blind randomized trial of pamidronate for metastatic bone disease// *Ann. Oncol.*— 1997. Vol. 8. P. 1243–1250.
15. Berenson J. R., Lichtenstein A., Porter L. et al. Efficacy of pamidronate in reducing skeletal events in patients with advanced multiple myeloma: Myeloma Aredia Study Group// *N Engl J Med.*— 1996.— Vol. 334.— P. 488–493.
16. Gimsing P., Carlson K., Turesson I. et al. Effect of pamidronate 30 mg versus 90 mg on physical function in patients with newly diagnosed multiple myeloma (Nordic Myeloma Study Group): A double-blind, randomised controlled trial// *Lancet Oncol.*— 2010.— Vol. 11.— P. 973–982.
17. Berenson J. R. Zoledronic acid in cancer patients with bone metastases: results of Phase I and II trials// *Semin. Oncol.*— 2001.— Vol. 28, Suppl. 6.— P. 25–34.
18. Rosen L. S., Gordon D., Kaminski M. et al. Zoledronic acid versus pamidronate in the treatment of skeletal metastases in patients with breast cancer or osteolytic lesions of multiple myeloma: a phase III, double-blind, comparative trial// *Cancer J.*— 2001.— Vol. 7.— P. 377–387.
19. Rosen L. S., Gordon D., Tchekmedyian S. et al. Zoledronic acid versus placebo in the treatment of skeletal metastases in patients with lung cancer and other solid tumors: a phase III, double-blind, randomized trial — the Zoledronic Acid Lung Cancer and Other Solid Tumors Study Group// *J. Clin. Oncol.*— 2003.— Vol. 21, N16.— P. 3150–3157.
20. Morgan G. Evaluating the effects of zoledronic acid (ZOL) on overall survival (OS) in patients (Pts) with multiple myeloma (MM): Results of the Medical Research Council (MRC) Myeloma IX study.— *ASCO// Abstract 2010 ASCO Annual Meeting — Category: Lymphoma and Plasma Cell Disorders -Multiple Myeloma.*
21. Morgan G. J., Child J. A., Gregory W. M. et al. Effects of zoledronic acid versus clodronic acid on skeletal morbidity in patients with newly diagnosed multiple myeloma (MRC Myeloma IX): Secondary outcomes from a randomised controlled trial// *Lancet Oncol.*— 2011.— Vol. 12.— P. 743–752.
22. Morgan G. J., Kaiser M. F. How to use new biology to guide therapy in multiple myeloma// *ASH Education Book.*— 2012.— Vol. 1.— P. 342–349.
23. Menssen H. D., Sakalova A., Fontana A. et al. Effects of long-term intravenous ibandronate therapy on skeletal-related events, survival, and bone resorption markers in patients with advanced multiple myeloma// *J. Clin. Oncol.*— 2002.— Vol. 20.— P. 2353–2359.
24. Бессмельцев С. С. Роль бисфосфонатов в лечении костной болезни при множественной миеломе// *Український журнал гематології та трансфузіології.*— 2006.— № 4.— С. 10–20.
25. Mitchell D. Y., St Peter J. V., Eusebio R. A. Effect of renal function on risedronate pharmacokinetics after a single oral dose// *Br. J. Clin. Pharmacol.*— 2000.— Vol. 49.— P. 215–222.
26. Coleman R. E., Purohit O. P., Black C. et al. Double-blind, randomised, placebo-controlled, dose-finding study of oral ibandronate in patients with metastatic bone disease// *Ann. Oncol.*— 1999.— Vol. 20.— P. 311–316.
27. Бессмельцев С. С., Абдулкадыров К. М. Множественная миелома. Современный взгляд на проблему.— Алматы: Коста, 2007.— 480 с.

28. Бессмельцев С. С. Бисфосфонаты в лечении множественной миеломы// Вестник гематологии (материалы всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы диагностики и лечения опухолевых заболеваний крови и лимфатической ткани»).— 2010.— № 2.— С. 15–16.
29. Бессмельцев С. С., Абдулкадыров К. М. Бисфосфонаты в лечении больных множественной миеломой// Проблемы гематологии и переливания крови.— 2001.— № 3.— С. 23–32.
30. Kyle R. A., Yee G. C., Somerfield M. R. et al. American Society of Clinical Oncology 2007 clinical practice guideline update on the role of bisphosphonates in multiple myeloma.// *J. Clin. Oncol.* 2007. Vol 25, N17. P. 2464–2472.
31. Morgan G. Evaluating the effects of zoledronic acid (ZOL) on overall survival (OS) in patients (Pts) with multiple myeloma (MM): Results of the Medical Research Council (MRC) Myeloma IX study.— ASCO// Abstract 2010 ASCO Annual Meeting — Category: Lymphoma and Plasma Cell Disorders -Multiple Myeloma.
32. Terpos E., Morgan G., Dimopoulos M. A. et al. International Myeloma Working Group Recommendations for the Treatment of Multiple Myeloma-Related Bone Disease// *J Clin Oncol.*— 2013. Published online before print May 20, 2013, doi:10.1200/JCO.2012.47.7901.
33. Migliorati C. A., Casiglia J., Epstein J. et al. Managing the care of patients with bisphosphonate-associated osteonecrosis: an American Academy of Oral Medicine position paper// *J. Am. Dent. Assoc.* 2005. Vol. 136. P. 1658–68.
34. Woo S. B., Solomon D. H. Bisphosphonates therapy for cancer and prevalence of inflammatory jaw conditions.// *J Natl. Cancer Inst.* 2007. Vol. 99, N13. P. 986–987.
35. Durie B. G., Katz M., Crowley G. Osteonecrosis of the jaw of bisphosphonates// *New Engl. J. Med.*— 2005.— Vol. 353.— P. 99–102.
36. Dimopoulos M. A., Kastritis E., Anagnostopoulos A. et al. Osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates: Evidence of increased risk after treatment with zoledronic acid// *Haematologica.*— 2006.— Vol. 91.— P. 968–971.
37. Marx R. E. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic// *J. Oral Maxillofac Surg.* 2003. Vol. 61. P. 1115–1117.
38. Durie B. G. M. Use of bisphosphonates in multiple myeloma: IMWG response to Mayo clinic consensus statement// *Mayo Clin. Proc.*— 2007.— Vol. 82, N4.— P. 516–522.
39. Body J. J., Facon T., Coleman R. E. et al. A study of the biological receptor activator of nuclear factor- κ B ligand inhibitor, denosumab, in patients with multiple myeloma or bone metastases from breast cancer// *Clin. Cancer Res.*— 2006.— Vol. 12, N4.— P. 1221–1228.
40. Vij R., Horvath N., Spencer A. et al. An open-label, Phase 2 trial of denosumab in the treatment of relapsed (R) or plateau-phase (PP) multiple myeloma (MM)// 49th ASH Annual Meeting and Exposition. Atlanta, GA, USA, 8–11 December 2007.
41. Henry D. H., Costa L., Goldwasser F. et al. Randomized, Double-Blind Study of Denosumab Versus Zoledronic Acid in the Treatment of Bone Metastases in Patients With Advanced Cancer (Excluding Breast and Prostate Cancer) or Multiple Myeloma// *J Clin Oncol.*— 2011, Feb 22 [Epub Ahead of Print]
42. Frassica DA. General principles of external beam radiation therapy for skeletal metastases// *Clin. Orthop. Relat. Res.*— 2003.— Vol. 415S.— P. S158-S164.
43. Mudano A. S., Bian J., Cope J. U. et al. Vertebroplasty and kyphoplasty are associated with an increased risk of secondary vertebral compression fractures: a population-based cohort study// *Osteoporos. Int.*— 2009.— Vol. 20, N5.— P. 819–826.
44. Пташников Д. А., Михайлов И. М., Засульский Ф. Ю. Травматолого-ортопедические аспекты в комплексной терапии больных множественной миеломой// Вестник гематологии.— 2014.— № 3.— С. 60–62
45. Tosi P. Diagnosis and treatment of bone disease in multiple myeloma: Spotlight on spinal involvement. *Scientifica Volume.*— 2013, Article ID104546, pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/104546>.

**Кострома И. И., Сидорова Ж. Ю., Грицаев С. В., Тиранова С. А., Свитина С. П.,
Дрижун Ю. С., Мартынкевич И. С., Капустин С. И., Чететкин А. В.**

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

**ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ АБЕРРАНТНОГО МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРНЫХ ОБЛАСТЕЙ
ГЕНОВ *SOX7*, *P15^{INK4B}* И АНТАГОНИСТОВ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ WNT У БОЛЬНЫХ
МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ.**

***Kostroma I. I., Sidorova Zh. Yu., Gritsaev S. V., Tiranova S. A., Svitina S. P.,
Drizhun J. S., Martinkevitch I. S., Kapustin S. I., Chechetkin A. V.***

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint-Petersburg

**STUDY OF THE ROLE OF ABERRANT METHYLATION OF PROMOTER REGIONS
OF *SOX7*, *P15^{INK4B}* AND PATHWAY ANTAGONIST GENES IN PATIENTS
WITH MYELODYSPLASTIC SYNDROME.**

Резюме. Метилирование генов-супрессоров опухоли рассматривают как один из ключевых механизмов развития миелодиспластического синдрома (МДС).

С целью выявления ассоциации статуса метилирования генов *SOX7*, *p15^{INK4b}*, *SFRP1*, *SFRP4* и *SFRP5* с отдельными клинико-гематологическими показателями и общей выживаемостью (ОВ) проанализированы данные 46 больных МДС, установленного по классификации ВОЗ. Медиана возраста больных 67,5 года. Статус метилирования генов изучали методом метилспецифичной ПЦР.

Аберрантное метилирование одного и более генов обнаружено у 43 больных (93,5%). С наибольшей частотой выявлялось метилирование *SOX7* (84,8% больных), *SFRP1* (71,7% больных) и *p15^{INK4b}* (54,3% больных). Метилирование одного, двух, трех, четырех и пяти генов одновременно имело место у 10,9%, 28,3%, 26,1%, 19,6% и 8,7% больных, соответственно.

Доли больных с аберрантным метилированием *SFRP1*, *SFRP4*, *SOX7* и *p15^{INK4b}* в группах, выделенных по процентному содержанию бластов в костном мозге, не различались. Метилирование гена *SFRP5* было более частой находкой у больных рефрактерной анемией с избытком бластов (РАИБ): 43,5% против 13,0% у больных без избытка бластов; OR=5,1, 95%CI: 1,2–22,3, p=0,047. У больных без бластоза чаще выявлялись случаи с 0–1 метилированным геном: 26,1% против 8,7% у больных РАИБ. В то же время, в группе больных РАИБ увеличение содержания костномозговых бластов сопровождалось

Abstract. Epigenetic aberrations, including hypermethylation of CpG islands in tumor-suppressor genes, are supposed to be a key mechanism of myelodysplastic syndrome (MDS) development.

To find out the association between methylation status of *SOX7*, *p15^{INK4b}*, *SFRP1*, *SFRP4* and *SFRP5* genes and some hematological features and overall survival (OS), the data of 46 MDS patients with median age of 67.5 years were analyzed. MDS was diagnosed according to WHO classification. Methylation-specific PCR was used to study the methylation status.

Aberrant methylation of 1 and more genes was found in 43 patients (93.5%). The most frequent findings were *SOX7* (84.8%), *SFRP1* (71.7%) and *p15^{INK4b}* (54.3%) genes methylation. Methylation of 1, 2, 3, 4 and 5 genes simultaneously was detected in 10.9%, 28.3%, 26.1%, 19.6% and 8.7% of patients, respectively.

There was no difference in the number of patients with *SFRP1*, *SFRP4*, *SOX7* and *p15^{INK4b}* methylation in the groups with different bone marrow blast counts. Methylation of *SFRP5* gene was more frequently seen in patients with refractory anemia with excess of blasts (RAEB): 43.5% vs 13.0% in patients without excess of blasts; OR=5.1, 95%CI: 1.2–22.3, p=0.047. The patients without excess of blasts were characterized by methylation of 0–1 genes: 26.1% vs 8.7% of RAEB patients, although the difference was not significant. At the same time, there was the tendency to increased number of cases with 3–5 methylated genes in patients with 10–19% blasts compared to patients with 5–9% blasts. In the

лось увеличением числа случаев с 3–5 метилированными генами.

В общей группе не обнаружено корреляции числа метилированных генов с возрастом, уровнем бластных клеток в костном мозге и вариантом кариотипа. Увеличение числа метилированных генов не влияло на ОБ.

Сделано заключение об увеличении объема эпигенетических нарушений по мере прогрессии МДС с повышением числа генов с aberrантным метилированием, в частности, гена *SFRP5*.

Ключевые слова: миелодиспластический синдром, метилирование, ген, *SOX7*, *p15^{INK4b}*, *SFRP1*, *SFRP4*, *SFRP5*.

Развитие миелодиспластического синдрома (МДС) — многоэтапный процесс сложного взаимодействия генетических и эпигенетических нарушений в стволовых клетках костного мозга с поврежденным гемопоэтическим микроокружением [1, 2]. Одним из принципиальных эпигенетических механизмов лейкозогенеза является метилирование островков CpG промоторных областей генов-супрессоров опухоли, в норме находящихся в неметилированном состоянии. Участие aberrантного метилирования ДНК в формировании патологического клона опосредовано транскрипционной инактивацией генов [2, 3]. Отличительным свойством эпигенетических повреждений является их обратимость, что делает привлекательной идею внедрения в клиническую практику ингибиторов ДНК-метилтрансфераз или так называемых азануклеозидов (например, 5-азацитина). Поэтому вполне обоснованным представляется интерес гематологов к изучению статуса метилирования генов как возможного механизма прогрессии МДС, самостоятельного фактора прогноза заболевания и перспективного маркера оценки эффективности гипометилирующих препаратов.

Данные литературы свидетельствуют о наличии aberrантного метилирования в целом ряде генов у больных МДС [4–7]. В отдельных исследованиях было установлено, что частота гиперметилирования ДНК ассоциирована с возрастом, количеством бластных клеток в костном мозге (КМ), цитогенетическими поломками, вариантом прогноза по шкале IPSS [4–8]. В ряде публикаций было продемонстрировано значение

whole MDS group, there was no correlation between the number of methylated genes and patient's age, number of bone marrow blasts or karyotype. Increased number of methylated genes did not influence the OS in the group of MDS patients.

We conclude that MDS progression is associated with enhancement of epigenetic disturbances leading to increase of the number of methylated genes, in particular, *SFRP5*

Key words: myelodysplastic syndrome, methylation, gene, *SOX7*, *p15^{INK4b}*, *SFRP1*, *SFRP4*, *SFRP5*.

aberrантного метилирования как предиктора общей (ОБ) и безлейкозной выживаемости [4, 5, 7]. Отдельным авторам удалось обнаружить сопряженность ОБ и эффективности терапии с числом метилированных генов [9, 10]. Так, M. Grovdal et al. [9] констатировали отсутствие ответа на стандартную цитостатическую терапию у больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) и МДС, у которых до начала курса было выявлено одновременное метилирование генов *p15^{INK4b}*, *CDH* и *HIC*. В свою очередь, M. Abaigar et al. [10] установили значимое снижение ОБ больных МДС, получавших терапию 5-азацитидином, в случае обнаружения 2 и более генов с метилированием островков CpG.

Непосредственное участие сигнального пути Wnt в регуляции процессов выживаемости, пролиферации и дифференцировки гемопоэтических стволовых клеток дает основание рассматривать его повреждения, включая метилирование отдельных генов, в качестве потенциального механизма лейкозогенеза, в том числе у больных ОМЛ и МДС [11–13]. Функционирование сигнального пути Wnt осуществляется в тесном контакте с генами семейства SOX. В частности, при их взаимодействии осуществляется контроль над экспрессией опухоль-ассоциированных генов, таких как *c-Myc* и *Cyclin D*. В свою очередь, продукт гена *SOX7*, относящегося к подсемейству F, подавляет активность сигнального пути Wnt/ β -catenin [14].

Ранее нами было обнаружено aberrантное метилирование генов *SOX7* и *p15^{INK4b}* у значительного числа больных ОМЛ и МДС [8]. Цель

данного исследования, в котором расширена панель изучаемых генов за счет анализа статуса метилирования промоторных областей трех генов антагонистов сигнального пути Wnt (*SFRP1*, *SFRP4* и *SFRP5*), — выявить ассоциативную связь между числом генов с aberrантным метилированием и отдельными клинико-гематологическими показателями, а также ОВ в группе больных МДС. Полученные данные планируется использовать для последующего обоснования назначения 5-азациитидина больным МДС низкого риска и возможной комбинации 5-азациитидина с другими лекарственными средствами больным высокого риска.

Материалы и методы.

Для решения поставленной цели были использованы данные 46 больных, диагноз МДС у которых был верифицирован или подтвержден в гематологической клинике ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России по результатам морфологического, цитохимического, гистологического, цитогенетического и иммунологического обследования. Отдельные варианты МДС были диагностированы согласно критериям классификации ВОЗ [15]. Критерием включения в анализ явилось отсутствие в анамнезе больного указания на терапию азануклеозидами в течение 6 месяцев, предшествующих заготовке образца периферической крови. Вариант прогноза МДС определяли по шкале IPSS-R [16].

После подписания больным информированного согласия осуществляли забор периферической крови. Геномную ДНК выделяли стандартным способом [17]. До проведения исследования образцы ДНК хранили при температуре -20°C. Статус метилирования генов *SOX7*, *p15^{INK4b}*, *SFRP1*, *SFRP4* и *SFRP5* изучали посредством метилспецифической полимеразной цепной реакции (methylation-specific PCR, MSP) [4,13,18].

Статистическую обработку данных осуществляли по точному методу Фишера. Для описания межгрупповых различий использовали показате-

ль «отношение шансов» (OR) с 95% доверительным интервалом (CI) и *p*-значение. Кривые Каплан-Майера были использованы для расчета показателей ОВ.

Результаты.

Среди обследованных больных было 20 мужчин и 26 женщин в возрасте от 24 до 88 лет, медиана составила 67,5 лет. Распределение по отдельным вариантам МДС было следующим: 4 больных рефрактерной анемией (РА), 3 рефрактерной анемией с кольцевыми сидеробластами (РАКС), 6 с изолированной del(5q), 10 рефрактерной цитопенией с мультилинейной дисплазией (РЦМД) и 23 рефрактерной анемией с избытком бластов (РАИБ). В группе РАИБ у 7 больных содержание бластных клеток в КМ было в диапазоне от 5 до 9% (РАИБ-1) и у 16 больных от 10 до 19% (РАИБ-2).

Кариотип был изучен у 44 больных. Из них у 18 (40,9%) выявлен нормальный кариотип, у 8 (18,2%) изолированная del(5q), у 8 (18,2%) комплексный кариотип, т.е. 3 и более хромосомные aberrации, и у 10 (22,7%) больных детектировались другие варианты цитогенетических поломок.

По результатам MSP, метилирование одного и более генов было обнаружено у 43 из 46 обследованных больных (93,5%). Отсутствие признаков aberrантного метилирования промоторных областей исследованных генов наблюдалось у одного больного с изолированной del(5q) и двух больных РЦМД. Встречаемость aberrантного метилирования исследованных генов была следующей: *SOX7* у 39 больных (84,8%), *SFRP1* у 33 (71,7%), *p15^{INK4b}* у 25 (54,3%), *SFRP4* у 13 (6,5%) и *SFRP5* у 13 больных (6,5%). Таким образом, aberrантное метилирование в генах *SOX7*, *SFRP1* и *p15^{INK4b}* было более частой находкой, чем в генах *SFRP4* и *SFRP5*.

Частота aberrантного метилирования генов в зависимости от варианта МДС представлена в таблице 1.

Таблица 1.

Частота aberrантного метилирования изученных генов при различных вариантах заболевания

Вариант МДС	Доля лиц с aberrантным метилированием гена, n (%)				
	<i>SFRP1</i>	<i>SFRP4</i>	<i>SFRP5</i>	<i>SOX7</i>	<i>p15^{INK4b}</i>
РА	3(75,0)	2(50,0)	0 (0,0)	4(100,0)	3(75,0)
del(5q)	5(83,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	4(66,7)	2(33,3)
РАКС	3(100,0)	3(100,0)	2(66,7)	3(100,0)	3(100,0)
РЦМД	7(70,0)	1(10,0)	1(10,0)	7(70,0)	2(20,0)
РАИБ-1	5(71,4)	1(14,3)	2(28,6)	5(71,4)	4(57,1)
РАИБ-2	10(62,5)	6(37,5)	8(50,0)	16(100,0)	11(68,8)

Вариант МДС	Доля лиц с aberrантным метилированием гена, n (%)				
	SFRP1	SFRP4	SFRP5	SOX7	p15 ^{INK4b}
< 5% бластов в КМ: РА, РАКС, РЦМД, del(5q)	18 (78,3)	6(26,1)	3(13,0)	18(78,3)	10(43,5)
≥ 5% бластов в КМ: РАИБ-1, РАИБ-2	15(65,2)	7(30,4)	10(43,5)	21(91,3)	15(65,2)

Учитывая незначительное число больных с отдельными вариантами МДС, для установления возможной прогностической значимости статуса метилирования изученных генов были сформированы 2 равные группы в зависимости от процентного содержания бластных клеток в КМ: < 5% (23 пациента) и ≥ 5% (23 пациента).

Число больных с aberrантным метилированием генов SFRP1, SFRP4, SOX7 и p15^{INK4b} в указанных группах не различалось. В то же время, метилирование гена SFRP5 значительно чаще обнаруживалось у больных РАИБ, чем при других вариантах МДС: 43,5% против 13,0%, соответственно; OR=5,1, 95% CI: 1,2–22,3; p = 0,047 (рис. 1).

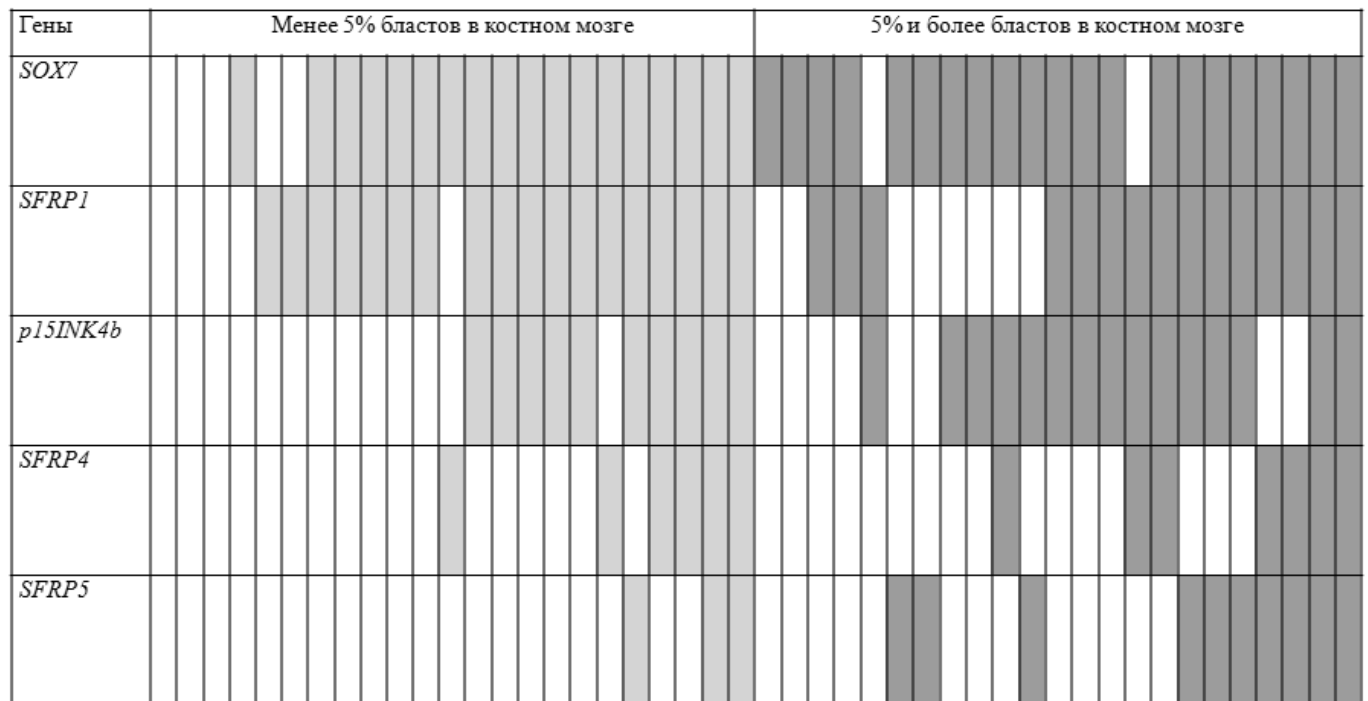


Рисунок 1. Статус метилирования генов в группах больных с разным бластозом в костном мозге
Примечание: По вертикали — отдельные больные

Для установления прогностической значимости количества метилированных генов дополнительно были выделены группы больных с 0–1 и 2–5 метилированными генами (табл. 2). Осно-

ванием для выбора разграничительного уровня послужили данные литературы о снижении эффективности азануклеозидов в случае обнаружения 2 и более метилированных генов [10].

Таблица 2.

Количество метилированных генов у больных с различными вариантами заболевания

Варианты МДС	Количество метилированных генов, n (%)					
	0	1	2	3	4	5
РА			1(25,0)	2(50,0)	1(25,0)	
del(5q)	1(16,7)	1(16,7)	2(33,3)	2(33,3)		
РАКС					1(33,3)	2(66,7)
РЦМД	2(20,0)	2(20,0)	3(30,0)	2(20,0)	1(10,0)	

Продолжение страницы

Варианты МДС	Количество метилированных генов, n (%)					
	0	1	2	3	4	5
РАИБ-1			5(71,4)	1(14,3)	1(14,3)	
РАИБ-2		2 (12,5)	2(12,5)	5(31,3)	5(31,3)	2(12,5)
< 5% бластов в КМ: РА, РАКС, РЦМД, del(5q)	6 (26,1)		17 (73,9)			
≥ 5% бластов в КМ: РАИБ-1, РАИБ-2	2 (8,7)		21 (91,3)			

Независимо от морфологических вариантов, преимущественной находкой в обеих группах было метилирование 2 и более генов: у 73,9% больных с <5% бластов и у 91,3% больных с ≥5% бластов. Следует отметить, что случаи с метилированием 0–1 генов в 3 раза чаще встречались в группе больных с благоприятными морфологическими вариантами, нежели у больных РАИБ: 26,1% против 8,7%, соответственно (OR=3,795%CI: 0,7–20,1; $p=0,24$).

Наряду с этим, обращает внимание тот факт, что у всех больных РАКС число генов с метилированием промоторных областей было ≥4, в отличие от больных другими благоприятными морфологическими вариантами, у которых aberrантное метилирование одновременно в 4 генах было представлено лишь единичными наблюдениями. Что касается больных с избытком бластных клеток, то нарастание бластоза сопровождалось тенденцией к увеличению случаев с 3–5 метилированными генами: 75,0% больных РАИБ-2 против 28,5% больных РАИБ-1; OR=7,595%CI:1,0–55,2; $p=0,066$.

При корреляционном анализе не выявлено ассоциации числа метилированных генов с возрастом больных, количеством бластных клеток (<5% против ≥5%) и вариантами кариотипа. Увеличение числа метилированных генов с 0–1 до 2–5 также не влияло на ОВ обследованных больных МДС; $p=0,433$. Вместе с тем, уровень бластных клеток в КМ (<5% против ≥5%), так же, как варианты кариотипа и прогноза по шкале IPSS-R, позволяли стратифицировать больных на группы, значительно различающиеся по показателям ОВ: $p=0,0004$; $p=0,048$ и $p=0,003$ соответственно.

Обсуждение.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют, прежде всего, о том, что метилирование генов-супрессоров лейкозной трансформации является ранним биологическим механизмом патогенеза МДС. Основанием для такого заключения является достаточно высокая частота aberrантного метилирования изученных генов у больных с низким содержанием бластных клеток в КМ (табл. 1, 2; рис. 1).

Обнаружение гена *SFRP5* в метилированном состоянии преимущественно у больных с избытком бластов и, прежде всего, в группе РАИБ-2, в совокупности с выявлением aberrантного статуса генов *SFRP1* и *SFRP4* в группах больных с разным процентом бластов в КМ (табл. 1, 2; рис. 1), позволяет сформулировать следующие предположения. Во-первых, о важности aberrантного метилирования гена *SFRP5* как позднего эпигенетического события, возникновение которого сопряжено со значительным объемом бластных клеток. Во-вторых, о наличии ассоциативной связи между прогрессией МДС и увеличением числа метилированных генов-антагонистов сигнального пути Wnt. Косвенным подтверждением данного предположения является обнаружение случаев с метилированием единичных генов преимущественно у больных без избытка бластов и отчетливая тенденция к увеличению числа генов с aberrантным метилированием до 3–5 у больных РАИБ-2.

Несмотря на указанные находки, не удалось выявить четкой корреляции между числом метилированных генов и уровнем бластных клеток в КМ. Отчасти это может быть обусловлено объединением в одну группу больных РАИБ-1 и РАИБ-2 вследствие их малочисленности. Другая возможная причина заключается в обособленности группы больных РАКС, в которой число метилированных генов во всех случаях достигало 4–5. Является ли это случайной находкой или закономерным явлением для данного варианта МДС, предстоит выявить по мере накопления достаточного объема клинико-лабораторных данных.

Не удалось обнаружить корреляции числа метилированных генов с вариантами кариотипа больных МДС. Возможно, это явилось следствием выбранного метода распределения пациентов по группам. В отличие от большинства исследователей, которые сравнивали группы больных с нормальным кариотипом и остальными цитогенетическими вариантами, нами были выделены 4 группы: с нормальным и комплексным кариотипом, с изолированной del(5q) и другими

абберациями. В то же время, не исключено, что метилирование генов и хромосомные перестройки — два независимых биологических феномена, хотя некоторые авторы отмечают тот факт, что неблагоприятные цитогенетические поломки нередко сопровождаются более частым выявлением абберантного метилирования генов-супрессоров [6]. По всей видимости, следствием вышеназванных находок явилось отсутствие корреляции между количеством метилированных генов и ОБ обследованных больных. Вместе с тем, был подтвержден статус прогностических маркеров таких показателей, как количество бластов в КМ, вариант кариотипа и вариант по шкале IPSS-R.

Обнаружение метилирования островков CpG у больных МДС с благоприятным прогнозом позволяет рассматривать азануклеозиды как возможную лечебную опцию при неэффективности эритропоэзстимулирующих, иммуномодулирующих или иммуносупрессивных препаратов. Подтверждением могут быть данные о достижении ответа у 30–60% больных МДС низкого риска при назначении 5-азациитидина [19]. Однако вопрос об ассоциации эффективности

5-азациитидина со статусом метилирования определенного(–ых) гена(–ов) и/или числом генов с абберантным метилированием в этой группе больных МДС остается открытым. В свою очередь, увеличение числа генов с метилированием островков CpG у больных РАИБ-2 может сопровождаться снижением эффективности азануклеозидов [10]. Этим больным оправданной может быть лечебная тактика, которая подразумевает не отмену 5-азациитидина в случае отсутствия ответа после 6 стандартных курсов терапии, а добавление нового препарата, в частности, малых доз цитарабина [20].

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о возрастании объема эпигенетических нарушений по мере прогрессии МДС, связанного с увеличением числа генов с абберантным метилированием, в частности, путем дополнительного метилирования островков CpG в гене *SFRP5*. Полученные данные о характере метилирования генов на разных этапах развития МДС обосновывают модификацию терапии азануклеозидами этой сложной категории онкогематологических больных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гематология. Под ред. проф. Рукавицина О. А.— ГЭОТАР-Медиа, 2015.— 776 с.
2. Baylin S. B. DNA methylation and gene silencing in cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2005; 2 (Suppl 1): 4–11.
3. Issa J. P. CpG island methylator phenotype in cancer. *Nat Rev Cancer* 2004; 4 (12): 988–993.
4. Fan R., Zhang L. Y., Wang H., et al. Methylation of the CpG island near SOX7 gene promoter is correlated with the poor prognosis of patients with myelodysplastic syndrome. *Tohoku J Exp Med* 2012; 227 (2): 119–128.
5. Wang H., Wang X. Q., Xu X. P., Lin G. W. ID4 methylation predicts high risk of leukemic transformation in patients with myelodysplastic syndrome. *Leuk Res* 2010; 34 (5): 598–604.
6. Yang Y., Zhang Q., Xu F. et al. Aberrant promoter methylation of Dab2 gene in myelodysplastic syndrome. *Eur J Haematol* 2012; 89 (6): 469–477.
7. Aggerholm A., Holm M. S., Guldberg P. et al. Promoter hypermethylation of P15^{ink4b}, HIC1, CDH1 and ER is frequent in myelodysplastic syndrome and predicts poor prognosis in early stage patients. *Eur J Haematol* 2006; 76 (1): 23–32.
8. Грицаев С. В., Сидорова Ж. Ю., Капустин С. И. и др. Анализ статуса метилирования генов p15^{INK4B} и SOX7 у больных миелодиспластическим синдромом и острым миелоидным лейкозом. *Гематология и трансфузиология* 2015; 60 (1): 12–17.
9. Grovdal M., Khan R., Aggerholm A. et al. Negative effect of DNA hypermethylation on the outcome of intensive chemotherapy in older patients with high-risk myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia following myelodysplastic syndrome. *Clin Cancer Res* 2007; 13 (23): 7107–7112.
10. Abaigar M., Ramos F., Benito R. et al. Prognostic impact of the number of methylated genes in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias treated with azacytidine. *Ann Hematol* 2013; 92 (11): 1543–1552
11. Valencia A., Roman-Gomez J., Cervera J. et al. Wnt signaling pathway is epigenetically regulated by methylation of Wnt antagonists in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2009; 23 (9): 1658–1666.

12. Wang Y., Krivtsov A. V., Sinha A. U. et al. The Wnt/beta-catenin pathway is required for the development of leukemia stem cells in AML. *Science* 2010; 327 (5973): 1650–1653.
13. Wang H., Fan R., Wang X. Q. et al. Methylation of Wnt antagonist genes: a useful prognostic marker for myelodysplastic syndrome. *Ann Hematol* 2013; 92 (2): 199–209.
14. Guo L., Zhong D., Lau S. et al. Sox7 is an independent checkpoint for beta-catenin function in prostate and colon epithelial cells. *Mol Cancer Res* 2008; 6 (9): 1421–1430.
15. Vardiman J. W., Thiele J., Arber D. A. et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009; 114 (5): 937–951.
16. Greenberg P. L., Tuechler H., Schanz J. et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012; 120 (12): 2454–2465.
17. Miller S. A., Dykes D. D., Polesky H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acid Res* 1988; 16 (3): 1215–1218.
18. Herman J. G., Graff J. R., Myohanen S. et al. Methylation-specific PCR: A novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *PNAS* 1996; 93 (18): 9821–9826.
19. Fili C, Malagola M., Follo M. Y. et al. Prospective phase II study on 5-days azacitidine (5d-AZA) for treatment of symptomatic and/or erythropoietin unresponsive patients with low/int-1 risk myelodysplastic patients. *Clin Cancer Res* 2013; 19 (12): 3297–3308.
20. Radujkovic A., Dietrich S., Bochtler T. et al. Azacitidine and low-dose cytarabine in palliative patients with acute myeloid leukemia and high bone marrow blast counts — a retrospective single-center experience. *Eur J Haematol* 2014; 93 (2): 112–117.

Шамов И. А., Гасанова П. О.*ГБОУ ВПО «Дагестанская государственная медицинская академия МЗ РФ», кафедра пропедевтики внутренних болезней, Россия, Махачкала***ЖЕЛЕЗО, АБСОРБЦИЯ, ТРАНСПОРТ****Shamov I. A., Gasanova P. O.***Daghestan state medical academy, Makhachkala, Russia***FERRUM, ABSORPTION, TRANSPORT**

Резюме. Железо — микроэлемент, участвующий во многих метаболических процессах в организме, но имеющий особое значение в нормальном функционировании эритроцитарной части системы крови. В последние годы наука достигла выдающихся успехов в понимании процессов абсорбции и транспорта железа, открыв ряд новых пептидов, участвующих в этих процессах и раскрыв механизмы их функционирования. Это такие факторы, как двухвалентный металлотранспортёр (ДМТ-1), гепсидин (ГП), ферропортин (ФП), гестестин (ГФ) и ряд других, принимающих косвенное участие в процессах обмена железа и развитии анемий.

В статье дана краткая характеристика этих факторов и показаны механизмы их работы. Автором составлена новая, наглядная схема участия этих факторов в абсорбции и транспорте железа.

Ключевые слова: железо, абсорбция, транспорт.

Железо — микроэлемент, участвующий во многих метаболических процессах в организме. Оно входит в гематологические функциональные единицы, транспортирующие кислород, ферменты, катализирующие многие обменные процессы, и ряд других соединений.

Большую часть потребного железа организм получает путём рециркулирования его из апоптозированных эритроцитов. Кроме того, железо поступает с пищей и всасывается энтероцитами верхнего отдела ЖКТ. Эта часть обеспечения потребностей организма в железе играет весьма важную роль, ибо развитие и дефицит железа и железодефицитной анемии во многом зависят от неё [20].

В своё время нами было установлено, что наиболее активно всасывание железа происходит в проксимальном отделе ЖКТ — в комплексе «дуоденум+тонкий кишечник» [4].

Summary. Iron — trace mineral involved in many processes in the body metabolism, but of particular importance in the normal functioning of the packed red blood system. In recent years, science has made remarkable progress in understanding the processes of absorption and transport of iron by opening a series of new peptides involved in these processes and to reveal the mechanism of their functioning. It is factors such as divalent metallothionein (DMT-1), hepcidin (HP), ferroportin (FP), gestedin (GF) and a number of other taking part in indirect process iron metabolism and anemia. The article gives a brief description of these factors and shows the mechanisms of their work. The author composed a new, pictorial diagram participation of these factors in the absorption and transport of iron.

Key words: iron, absorption, transport

Определение всасывательной способности различных участков кишечника проводилось д-ксилозным методом. Существующий метод определения д-ксилозы в крови и моче был модифицирован, переведен в разряд микрометодов и признан рационализаторским предложением отраслевого значения [1].

Всасывательную способность тонкого кишечника определяют по экскреции д-ксилозы с мочой после нагрузки. Способ этот нашел широкое применение в мире, но он давал представление о всасывании в целом, на всем протяжении дуоденума и тонкого кишечника, без топографической дифференциации по мере прохождения железа по этим отделам. В связи с этим, для более точного и дифференцированного топографически изучения всасывательной способности различных участков желудочно-

кишечного тракта (ЖКТ) нами был разработан новый способ [2, 3].

Он был основан на известном факте, что всасывательная способность различных участков кишечника имеет пространственно-временные различия, определяемые по концентрации д-ксилозы в крови, взятой через 15 минут, 30 минут, 1, 2, 3 часа после дачи в качестве нагрузки внутрь. Эти временные промежутки соответствуют продвижению раствора д-ксилозы и всасыванию его в 12-перстной кишке и различных отделах тонкого кишечника.

Достоверность полученных нами данных о точности временно-пространственных суждений всасывания д-ксилозы была подтверждена во 2-й больнице МПС г. Москвы на кафедре общей терапии под руководством профессора Л.И. Идельсона. На этой кафедре для объективизации места всасывания д-ксилозы метод был сравнен с методом определения всасывания радиоактивного Fe⁵⁹.

Механизмы всасывания д-ксилозы и радиоактивного железа имеют много общего: активный механизм всасывания, одинаковое смещение градиента всасывания, отсутствие специфического носителя и зависимость от состояния обмена железа в организме. Объективность д-ксилозного метода обеспечивается тем, что этот углевод не содержится в организме человека и ее всасывание эпителиальными клетками зависит только от функциональной активности и морфологической целостности эпителиального покрова тонкого кишечника.

Нами было обследовано 10 больных различными формами ЖДА, у которых параллельно производили д-ксилозный тест и тест с радиоактивным железом. Оценка всасывания производилась через 15, 30 минут, 1, 2 и 3 часа после нагрузки д-ксилозой и радиоактивным железом.

Результаты показали высокое совпадение % всасывания радиоактивного железа и % выделения д-ксилозы. При этом наиболее высокие по-

казатели были отмечены на 15-й и 30-й минуте и через 1 час от начала эксперимента с соответствующим снижением в более поздние сроки. Методом изучения продвижения радиоактивного изотопа установлено, что данные сроки соответствуют нахождению этого препарата в 12-перстной кишке и верхнем отделе тонкого кишечника. Таким образом, было доказано, что всасывание, в том числе и радиоактивного (а, следовательно, и обычного) железа наиболее активно идёт в комплексе «дуоденум+тонкий кишечник» в 12-перстной кишке и верхнем отделе тонкого кишечника с соответствующим снижением по мере продвижения по нижним отделам тонкого кишечника, то есть, показано существование проксимо-дистального градиента (ПДГ) всасывания железа [3, 4]. Этот способ топографического определения всасывания железа был признан изобретением и на него получено авторское свидетельство [2].

Оказалось, что данный механизм имеет чрезвычайно важное значение в усвоении железа. Нами было установлено, что, в зависимости от ряда обстоятельств, градиент может сдвигаться проксимально или дистально. Сдвиг градиента в проксимальном направлении сопровождался усилением всасывания железа, а в дистальном — угнетением [2–4].

Всасывание поступившего извне с пищей железа происходит в клетках эпителиального слоя дуоденального и тонкого отделов кишечника [20] — апикальных энтероцитах [11] путём весьма сложных биохимических процессов, координирующих абсорбцию и транспорт железа.

В понимании всех этих процессов и их составляющих в последние 5–10 лет произошли значительные изменения. На основе полученных к настоящему времени фактов нами разработана следующая схема абсорбции и транспорта железа в организме человека (*рис. 1*), которая зарегистрирована на предмет изобретения (регистрационный № 2015151986 от 03.12.2015).

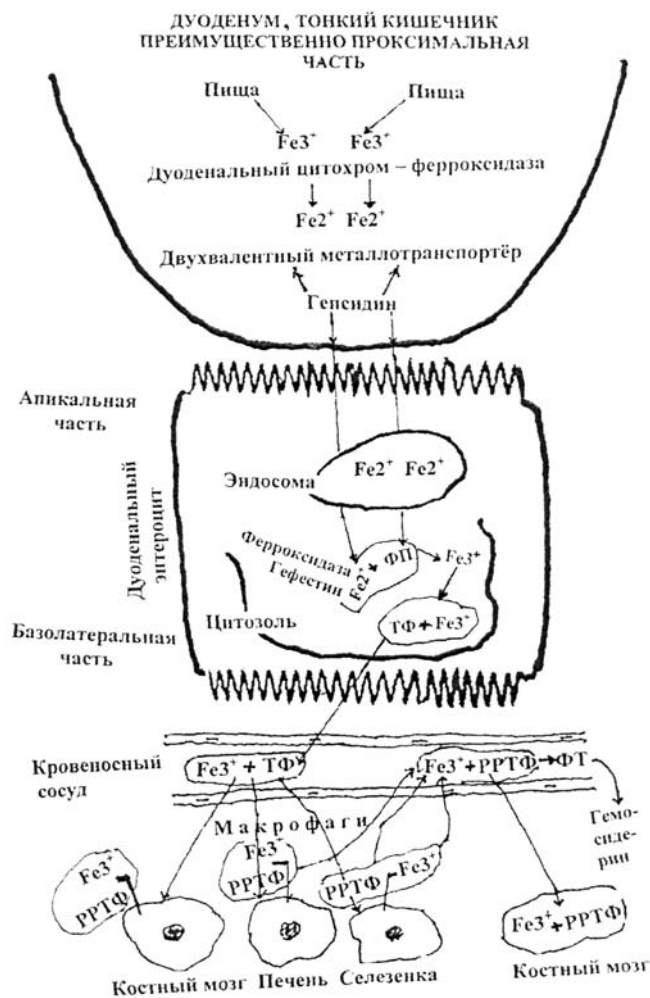


Рисунок 1. Схема современных представлений об абсорбции и транспорте железа

Аббревиатура: Fe³⁺ — окисленное трёхвалентное железо;
 Fe²⁺ — восстановленное двухвалентное железо;
 ФП — ферропортин;
 ТФ — трансферрин;
 РРТФ — растворимые рецепторы трансферрина;
 ФТ — ферритин.

Железо с пищей поступает в 12-перстную кишку в виде гемовой (усваивается наиболее эффективно, имеется в животных продуктах — мясе, рыбе, составляет 40% всего железа) и негемовой (усваивается менее эффективно, содержится в фруктах, овощах, зёрнах, орехах и растениях, составляет 60% всего железа) форм. Как правило, это окисленное трёхвалентное железо Fe³⁺, которое переходит в двухвалентное восстановленное Fe²⁺ под влиянием церулоплазмينا, действующего здесь как ферроксидаза (ферроредуктаза).

Ферроксидаза (церулоплазмин) — гликопротеид α2-глобулиновой фракции сыворотки

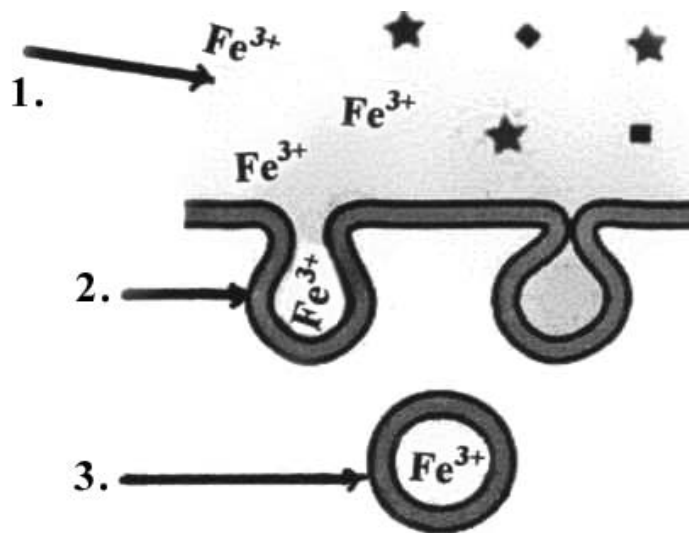
крови человека. Выполняет в организме ряд важных биологических функций: повышает стабильность клеточных мембран; участвует в иммунологических реакциях; ионном обмене; оказывает антиоксидантное действие; тормозит перекисное окисление липидов; стимулирует гемопоэз. В апикальном отделе дуоденально-тонкокишечных энтероцитов церулоплазмин, действуя как ферроксидаза, переводит окисленное трёхвалентное железо в восстановленное двухвалентное. В базолатеральном отделе дуоденально-кишечных энтероцитов [13] он, совместно с гепсидином (см. ниже), выполняет обратную функцию — переводит восста-

новленное железо Fe^{2+} в Fe^{3+} . Это делает возможным включение железа в трансферрин без образования токсических продуктов железа. Поддержание нормального транспорта и метаболизма железа — жизненно важная функция церулоплазмينا.

Восстановленное двухвалентное железо из просвета комплекса «дуоденум-тонкий кишечник» с помощью двухвалентного металлоторанспортёра перемещается к апикальной части энтероцита.

Двухвалентный металлоторанспортер (ДМТ-1). ДМТ-1 является посредником апикального захвата (эндоцитоз, пиноцитоз, фагоцитоз) железа в пузырьки липидной мембраны дуоденально-тонкокишечных энтероцитов с образованием эндосом, с последующим преобразованием их в энтероцитах в эндосомы (рис. 2).

Эндосома — клеточные вакуоли, образующиеся путём пиноцитоза или фагоцитоза липидной оболочкой различных веществ, в данном случае — железа.



1. Железо в просвете кишечника
2. Эндоцитоз
3. Эндосома

Рисунок 2. Процесс переноса железа из внеклеточной среды внутрь клетки путём пиноцитоза (эндоцитоза, фагоцитоза).

Из эндосомы далее железо с участием двухвалентного металлоторанспортёра (ДМТ-1) (рис. 1) переносится в цитозоль.

Цитозоль — внутриклеточная жидкость, весьма сложный коктейль, где содержится огромное количество разных белков, ферментов и прочих жизненно важных факторов. Из цитозоля железо после ряда превращений перемещается далее к базолатеральной части энтероцита [16] (рис. 1).

ДМТ-1 состоит из 561 аминокислоты с 12 трансмембранными доменами. Считается, что он вырабатывается в проксимальном отделе кишечника. Его синтез регулируется состоянием запасов железа в организме [9]. ДМТ-1 играет существенную роль не только в переносе железа в эндосому и цитозоль энтероцита, но и в поддержании внутриклеточного гомеостаза железа. Доказана его роль как генетического фактора

развития ряда форм анемий. Так, при мутации гена ДМТ-1 у человека возникает микроцитарная анемия и перегрузка железом [7, 12, 17].

Концентрацию ДМТ-1 в организме регулирует другой пептид, играющий очень важную роль в целом ряде звеньев транспорта железа — гепсидин (рис. 1).

Гепсидин (ГП) — универсальный регулятор всасывания железа. Структура молекулы ГП представляет собой «шпильку», у которой 2 «руки» связаны дисульфидными мостиками в лестницеобразной конфигурации [5, 6, 8, 10, 15, 18, 19], что характеризует его высокую химическую активность.

ГП синтезируется в печени, незначительные количества содержатся в почках, сердечной и скелетных мышцах и мозге. Синтез стимулируется при пополнении запасов железа, воспалительных процессах в организме, бактериальных

инфекциях. Соответственно, количество ГП увеличивается при этих состояниях. Он является, прежде всего, антибактериальным белком и за счет своего химического строения (пространственное разделение гидрофобных и гидрофильных боковых цепей) может разрывать клеточную мембрану бактерий и вирусов, приводя к их гибели. Концентрация ГП при бактериальном и/или вирусном заражении может повышаться в десятки и даже в сотни раз. В то же время, оказалось (как это установлено в последние годы), что ГП является важнейшим регулятором процессов абсорбции и транспорта железа и развития различных форм анемий. Возрастание синтеза с последующим увеличением количества ГП при насыщенности железом организма приводит к ингибированию его абсорбции в кишечнике. В связи с этим, он имеет главенствующее значение в возникновении дефицита железа при анемиях хронических заболеваний (АХЗ), когда из-за поступления (или роста) патогенов в организм количество этого пептида резко возрастает. Стимуляция и накопление ГП является защитной реакцией организма на воспалительный стимул любой этиологии. Микроорганизмы конкурируют с организмом человека по потреблению железа и гепсидин, гомеостатически ограничивая это конкурентное потребление, приводит к гибели бактерий, вирусов, других патогенов, которые остро нуждаются в железе для своей пролиферации и жизнедеятельности. В то же время повышение количества ГП, являющееся гомеостатической защитной реакцией, приводит к угнетению всасывания железа и развитию АХЗ.

Как уже указывалось, первым местом приложения ГП в абсорбции железа является апикальная часть энтероцита, где он взаимодействует с ДМТ-1 (рис. 1). В зависимости от потребности организма в железе ГП или усиливает, или тормозит прохождение железа из комплекса «дуоденум-тонкий кишечник» через мембрану апикальной части энтероцита в эндосому. Высокое содержание ГП подавляет синтез ДМТ-1, уменьшая степень абсорбции железа энтероцитами. Далее он участвует также в высвобождении железа из тех клеток, где оно находится в связанном состоянии с растворимыми рецепторами трансферрина (рис. 1). При этом имеется отрицательная корреляция вышеуказанных процессов — чем больше ГП, тем меньше всасывается и высвобождается железо, и наоборот.

Выше уже указывалось, что в цитозоле железо подвергается ряду превращений. Первым таким

превращением является образование комплекса Fe^{2+} — ферропортин (рис. 1).

Ферропортин (ФП), известный также как железорегуляторный протеин 1 (iron regulated protein 1 — IREG1) или металлоторерантный протеин (metal tolerance protein 1 — MTP1), является цитоплазматическим экспортером железа, ответственным за выход железа в плазму [13, 16]. ФП присутствует в клетках всех экспортирующих железо тканей, включая плаценту, макрофаги, гепатоциты, энтероциты, дуоденальный отдел кишечника. Он экспрессируется также в нейронах, подтверждая тем самым значение гомеостаза железа для этих клеток. Установлено, что он синтезируется в печени и является 25-аминокислотным пептидом, богатым цистеином с 4 дисульфидными мостиками. Мутация в гене ФП приводит к гемохроматозу IV типа, известному как ферропортиновая болезнь, при которой железо аккумулируется в ретикулоэндотелиальных макрофагах.

Экспрессия ФП наблюдается в ответ на увеличение железа и воспалительную стимуляцию. Регуляция этого протеина происходит несколькими путями, включая действие ГП. Работами Nemeth et al. [14] установлено, что при большом количестве железа и высоком содержании ГП он деградирует, что приводит к уменьшению выхода железа из клеток, а при низком содержании железа в лабильном пуле и, соответственно, низком содержании ГП, ФП выводит из клеток железо в кровоток. Здесь в этом процессе участвует и другой пептид — гефестин (рис. 1).

Гефестин (ГФ) — белок человека, кодируемый геном HEPH на X-хромосоме (локализация — Xq11-q12). Структура ГФ смоделирована по третичной структуре церулоплазмينا, содержит гомологичный последнему активный центр и участки связывания меди. В отличие от церулоплазмينا, в молекуле ГФ один из доменов является трансмембранным.

ГФ участвует в метаболизме железа, также являясь ферментом феррооксидазой. Он в высокой степени гомологичен белку церулоплазмину, участвующему в метаболизме железа и переносящему медь. Максимальная его экспрессия имеет место в кишечнике.

С помощью ГФ и феррооксидазы Fe^{2+} в цитозоле вновь превращается в Fe^{+3} , для того, чтобы оно смогло связаться с белком-переносчиком, трансферрином, который связывает только эту форму железа (рис. 1).

Трансферрин (ТФ) — белок плазмы крови, относящийся к бета-глобулинам, который осуществляет транспорт ионов железа (рис. 3).

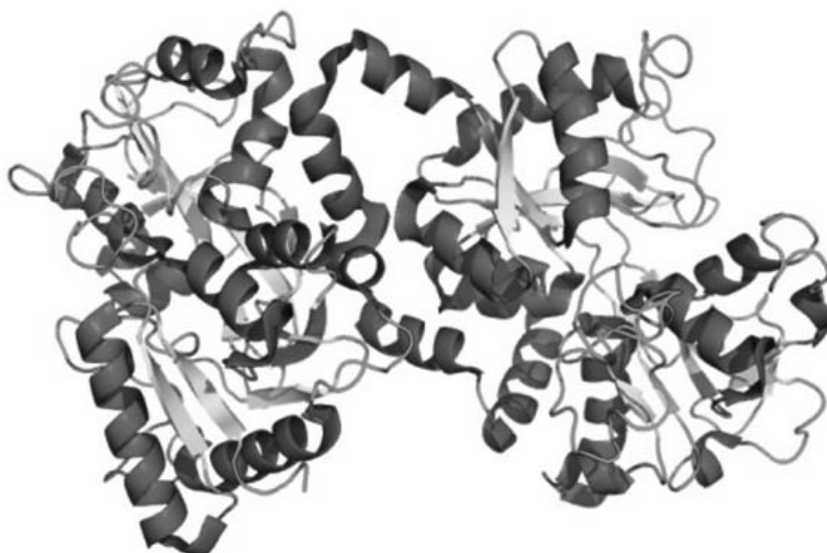


Рисунок 3. Трансферрин, нагруженный железом

Основное место синтеза ТФ — печень. Из общего его количества в организме человека только 25–40% содержит железо. ТФ представляет собой гликозилированные белки, которые обратимо связывают ионы железа. Они имеют молекулярную массу около 80 кДа и два места связывания Fe^{3+} . С ними связано около 0,1% всех ионов железа в организме (что составляет порядка 4 мг), однако эти ионы играют большую роль в метаболизме железа и развитии железодефицитной анемии. Не связанный с железом трансферрин носит название апопротеина или апо-трансферрина.

Определение трансферрина в сыворотке является наиболее достоверным тестом оценки железодефицитных анемий. Правда, необходимо учитывать, что причинами снижения содержания трансферрина в сыворотке крови могут быть и торможение процессов синтеза в гепатоцитах при хроническом гепатите, циррозе, хронической нефропатии, голодании, неопластических процессах.

Окисленное Fe^{3+} , присоединённое к ТФ, через базолатеральную часть мембраны эритроцита поступает в кровоток. С кровью оно разносится по организму и попадает к имеющимся на поверхности макрофагов костного мозга, печени и селезёнки растворимым рецепторам трансферрина (рис. 1).

Растворимые рецепторы трансферрина (РРТФ) — это белки, расположенные на поверхности клеток, которые обеспечивают перенос ионов железа внутрь клетки с её поверхности. Они обнаружены на поверхности макрофагов

печени, селезёнки, но примерно 80% — на поверхности клеток-предшественников эритроцитов.

Поскольку РРТФ экспрессируются главным образом на эритроидных клетках-предшественниках, предполагается, что их уровень отражает скорость обновления эритроидных клеток, которая определяется скоростью пролиферации и потребностью в железе. В клинической практике изменение уровня РРТФ в сыворотке связано с изменением скорости роста эритроидной ткани и/или запасов железа в организме. Например, при ЖДА уровень циркулирующих РРТФ будет повышен вследствие увеличения потребности в железе, необходимом для эритропоэза.

Уровень РРТФ и внутриклеточная концентрация железа обратно коррелируют.

РРТФ состоит из двух пептидных цепей, проходящих сквозь мембрану клетки. Молекула трансферрина присоединяется к внешнему, экстрацеллюлярному концу рецептора (рис. 1), после чего поглощается клеткой путем эндоцитоза. Под воздействием экстрацеллюлярных протеаз от внутриклеточных комплексов РРТФ+железо отсекается и попадает в кровь фрагмент РРТФ с прикреплённым к нему двухвалентным железом. Это железо потребляется эритроидными клетками для синтеза гемоглобина или идёт на запас в ферритин (ФТ) в ткани организма или в кровь (рис. 1).

Ферритин (ФТ) — водорастворимый белок с молекулярной массой 440 000 кД, способный присоединить до 4500 атомов железа на молекулу, что связано с его биологической функцией.

Эта функция заключается в депонировании железа, токсичного для организма в свободном состоянии, в растворимой, нетоксичной и физиологически доступной форме. Впервые ферритин был выделен Granik из селезенки лошади и с тех пор установлено его присутствие не только у высших животных, но и в растениях и микроорганизмах.

Молекула ферритина состоит из двух компонентов: белковой «раковины» — апоферритина и кристаллической «сердцевины» в виде коллоидного гидроксида железа. Полностью насыщенная железом молекула ферритина содержит железа до 27% своей молекулярной массы. Для захвата железа необходим молекулярный кислород, причем ферритин выполняет ферроксидазную функцию, т.е. способен переносить электрон (по неизвестному пока механизму) с восстановленного железа Fe^{2+} на кислород, образуя окисленное железо Fe^{3+} . Вторым продуктом этой реакции являются радикалы, закономерно возникающие в результате одноэлектронного восстановления кислорода. Различные радикалы кислорода — цитотоксические агенты, поэтому ферритин считается белком с выраженной цитотоксической и цитотропной функциями.

Белковая оболочка ферритина — апоферритин — состоит из 24 субъединиц двух видов: H (heavy) и L (light). Синтез H- и L-субъединиц детерминирован разными генами. Субъединицы имеют неодинаковую молекулярную массу, антигенную и изоэлектрическую характеристики. Различные количественные сочетания H- и L-субъединиц создают большую гетерогенность изоферритинов, поэтому каждый орган имеет свою композицию H- и L-субъединиц, т.е. «свой изоферритин». Так, ферритин печени и селезенки содержит 80–90% L-и 10–20% H-субъединиц. Сердце, плацента, фетальные ткани, злокачественные опухоли в своих изоферритинах, наоборот, содержат преимущественно H-форму, которую называют фетоплацентарной, онкофетальной, кислой.

Назначение этих органоспецифических ферритинов до конца не ясно. Однако известно, что ферритин печени является депо железа для всего организма. Ферритин в слизистой оболочке тонкой кишки служит для переноса железа из просвета кишечника к трансферрину сыворотки; плацентарный ферритин переносит железо от материнского трансферрина к фетальному, ферритин ретикуло-эндотелиальной системы адсорбирует железо, освобожденное при деструкции эритроцитов, с тем, чтобы реутилизировать же-

лезо для синтеза гемоглобина. В физиологических условиях биосинтез апоферритина стимулируется железом. При гемохроматозе и гемосидерозе, т.е. в ситуациях, связанных с перегрузкой организма железом, количество ферритина растет, а при дефиците железа происходит супрессия синтеза апоферритина и его количество снижается.

Ферритин синтезируется клетками различных тканей: печени, селезенки, костного мозга, сердечной мышцы, легких, почек, щитовидной железы, плаценты, тонкого кишечника, поджелудочной железы, а также лейкоцитами.

Присутствует ферритин практически во всех тканях и органах, но основные его запасы сконцентрированы в макрофагах печени, костном мозге, сыворотке крови, селезенке, слизистой тонкой кишки. Синтезируемый в различных органах и тканях ферритин в незначительных количествах выделяется в сыворотку, причем в физиологических условиях уровень сывороточного ферритина (СФ) коррелирует с запасами железа в организме: 1 мкг/л СФ в норме соответствует 8 мг депонированного железа.

Наиболее хорошо изучена железодепонирующая роль ферритина, которая позволяет организму сохранять железо в нетоксичной, растворимой, легкодоступной форме, из которой оно может быть мобилизовано для синтеза гемоглобина, негемовых железосодержащих белков, гемосидерина (рис. 1).

Гемосидерин — темно-желтый (обычно аморфный) пигмент, который состоит из оксида железа. Гемосидерин образуется при расщеплении гема и является полимером ферритина. Он представляет собой коллоидную гидроокись железа, связанную с белками, гликозаминогликанами и липидами клетки. Клетки, в которых образуется гемосидерин, называются сидеробластами. В их сидеросомах происходит синтез гранул гемосидерина. Сидеробласты могут быть как мезенхимальной, так и эпителиальной природы.

Гемосидерин постоянно обнаруживается в ретикулярных и эндотелиальных клетках селезенки, печени, костного мозга, лимфатических узлах.

Таким образом, современные достижения науки позволяют считать, что основными регуляторными белками обмена железа являются ГП, ДМТ-1, ФП, ГФ и ТФ — РРТФ — ФТ — гемосидерин.

Это делает необходимым в срочном порядке вводить в клиническую практику диагностики

железодефицитных состояний и анемий, наряду с определением железа сыворотки крови, ферритина, общей и латентной железосвязывающей способности сыворотки крови (трансферрин), его растворимых рецепторов, определение ГП, ДМТ-1, ФП, ГФ. Без этого на сегодня невозмож-

но грамотное распознавание анемий, в генезе которых играет роль железо — это железодефицитная анемия (ЖДА), анемия хронических заболеваний (АХЗ), почечные анемии (ПА) и анемии при хронической сердечной недостаточности (АХСН).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гасанова П. О., Шамов И. А. Микрометод определения содержания д-ксилозы в крови и моче // *Лаборат. дело*. 1984, № 6. — С. 349–352.
2. Гасанова П. О., Шамов И. А. Способ определения всасывательной способности тонкого отдела кишечника. Авторское свидетельство N13777044 от 1 ноября 1987.
3. Гасанова П. О., Шамов И. А. Способ определения всасывательной способности (градиента всасывания) тонкой кишки. Лаб. дело. 1988, N11. — С. 27–31.
4. Гасанова П. О. Состояние всасывательной (транспортной) способности тонкой кишки у больных железодефицитными анемиями // *Депрессии кроветворения*. Ставрополь, 1988. — С. 25–30.
5. Detivaud L., Nemeth E., Boudjema K. Hepsidin levels in humans are correlates with hepatic iron stores, hemoglobin levels and hepatic function. *Blood* 2005; 106 (2): 746–8.
6. Ganz T. Hepsidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102 (3) : 783–788.
7. Hongyan F. Z., Hu L., Kwan M., Chen G. Structure, assembly and topology of the G185 mutant of the fourth transmembrane domain of divalent metal transporter. *JACS* 2005; 127: 1414–23.
8. Hunter H. N., Fulton D. B., Ganz T., Vogel H. J. The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem* 2002; 277 (40) 37597–37603.
9. Knutson M. D., Oukka M., Koss L. M. Iron release from macrophages after erythro phagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by hepcidin. *Proc Nat Acad Sci USA* 2005; 102 (5): 1324–1328.
10. Leong W., Lonnerdal B. Hepsidin the recently identified peptid that appears to regulate iron absorption. *J Nutr* 2004; 134 (1): 1–4.
11. Mackenzie B., Garriek M. D. Iron Imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289 (6): G 981–986.
12. Mims M. P., Guan Y., Popisilova D. Identification of a human mutation of DMT1 in a patient with microcytic anemia and iron overload. *Blood* 2005; 105 (3): 1337–1342.
13. McKie AT¹, Barlow DJ. The SLC40 basolateral iron transporter family (IREG1/ferroportin/MTP1). *Pflugers Arch.* 2004 Feb; 447 (5): 801–816.
14. Nemeth E., Preza G. C., Yung C. L. The N-terminal of hepcidin is essential for its interaction with ferroportin. Structure-function study. *Blood* 2006; 107 (1): 328–333.
15. Nemeth E. Targeting the hepcidin-ferroportin axis in diagnosis and treatment of anemias. *Adv Hematol* 2010; 2010: 750643.
16. Nunes M. T. Regulatory mechanism of intestinal iron absorption — uncovering of a fast response mechanism based on DMT-1 and ferroportin endocytosis. *Biofactors* 2010; 36 (2): 88–97.
17. Papanikolaou G., Samuels M. E., Ludwig E. H. et al. Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2004; 36 (1): 77–82.
18. Papanikolaou G., Tzilianov M., Christakis J. I. Hepsidin in iron overload disorders. *Blood* 2005; 10: 4103–5.
19. Parajes S. Genetic study of the hepcidin gene (HAMP) promoter and functional analysis of the C.—582A > G variant. *BMC Genet* 2010; 11: 110–113.
20. Roy C. N., Enns C. A. Iron homeostasis: new tales from the crypt. *Blood* 2000; 96 (13): 4020–4027.

